93/00064 021003

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum 13. November 2003 (13.11.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer WO 03/093482 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/82, C12P 7/64

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP03/04297

(22) Internationales Anmeldedatum:

25. April 2003 (25.04.2003)

(25) Einreichungssprache:

Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache:

Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

102 19 203.0

29. April 2002 (29.04.2002) - DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): BASF PLANT SCIENCE GMBH [DE/DE]; Carl-Bosch-Str. 38, 67056 Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): CIRPUS, Petra

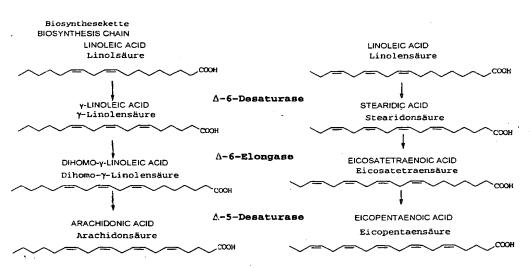
[DE/DE]; Landteilstr.12, 68163 Mannheim (DE). RENZ, Andreas [DE/DE]; Heinrich-von-Kleist-Str.6, 67117 Limburgerhof (DE). LERCHL, Jens [DE/SE]; Onsjövägen 17, S-26831 Svalöv (SE). KUIJPERS, Anne-Marie [NL/DE]; Pappelstr. 31, 67166 Otterstadt (DE).

- (74) Anwalt: PRESSLER, Uwe; c/o BASF Aktiengesellschaft, 67056 Ludwigshafen (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING MULTIPLE UNSATURATED FATTY ACIDS IN PLANTS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG MEHRFACH UNGESÄTTIGTER FETTSÄUREN IN PFLANZEN



(57) Abstract: The invention relates to a method for producing fatty acid esters which contain unsaturated fatty acids with at least three double-bonds, and free unsaturated fatty acids having a content of at least 1 wt.- %, in relation to the total amount of fatty acids contained in plants, by expression of at least one nucleic acid sequence which codes for a polypeptide having D-6-desaturase activity, and at least one nucleic acid sequence which codes for a polypeptide having D-6-elongase activity. Advantageously, said nucleic acid sequences can be expressed, optionally, together with a third nucleic acid sequence in the transgenic plant, which codes for a polypeptide having D-5-desaturase activity. The invention also relates to the use of defined nucleic acid sequences which code for polypeptides having a D-6-desaturase activity, D-6-elongase activity or D-5-desaturase activity, selected from a group of nucleic acid sequences, or to the use of nucleic acid structures containing the above-mentioned nucleic acid sequences.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 03/093482



WO 03/093482 A2



DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Veröffentlicht:

 ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Fettsäureester, die ungesättigte Fettsäuren mit mindestens drei Doppelbindungen enthalten, sowie freien ungesättigten Fettsäuren mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% bezogen auf die gesamten in der Pflanzen enthaltenden Fettsäuren durch Expression mindestens einer Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit D-6-Desaturaseaktivität codiert, und mindestens einer Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit D-6-Elongaseaktivität codiert. Vorteilhaft können diese Nukleinsäuresequenzen gegebenenfalls zusammen mit einer dritten Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit D-5-Desaturaseaktivität codiert, in der transgenen Pflanze exprimiert werden. Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung definierter Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit einer D-6-Desaturaseaktivität, D-6-Elongaseaktivität oder D-5-Desaturaseaktivität codieren ausgewählt aus einer Gruppe von Nukleinsäuresequenzen bzw. die Verwendung von Nukleinsäurekonstrukten enthalten die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen.

Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren in Pflanzen

5 Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Fettsäureester, die ungesättigte Fettsäuren mit mindestens drei Doppelbindungen enthalten, sowie freien ungesättigten Fett
10 säuren mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% bezogen auf die gesamten in der Pflanzen enthaltenden Fettsäuren durch Expression mindestens einer Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit Δ-6-Desaturaseaktivität codiert, und mindestens einer Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit Δ-6-Elongase
15 aktivität codiert. Vorteilhaft können diese Nukleinsäuresequenzen gegebenenfalls zusammen mit einer dritten Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit Δ-5-Desaturaseaktivität codiert, in der transgenen Pflanze exprimiert werden.

20 Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung definierter Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit einer Δ-6-Desaturaseaktivität, Δ-6-Elongaseaktivität oder Δ-5-Desaturaseaktivität codieren ausgewählt aus einer Gruppe von Nukleinsäuresequenzen bzw. die Verwendung von Nukleinsäure-25 konstrukten enthalten die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen.

Bestimmte Produkte und Nebenprodukte natürlich vorkommender Stoffwechselprozesse in mikrobiellen Zellen oder in den Zellen von Tieren und vorteilhaft Pflanzen sind für ein breites Spektrum 30 an Industrien, einschließlich der Futtermittel-, Nahrungsmittel-, Kosmetik- und pharmazeutischen Industrie, nützlich. Zu diesen gemeinsam als "Feinchemikalien" bezeichneten Molekülen gehören auch Lipide und Fettsäuren, unter denen eine beispielhafte Klasse die mehrfach ungesättigten Fettsäuren sind. Mehrfach ungesättigte 35 Fettsäuren (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) werden beispielsweise Nahrungsmittel für Kinder zugegeben, um einen höheren Nährwert dieser Nahrungsmittel zu erzeugen. PUFAs haben zum Beispiel einen positiven Einfluss auf den Cholesterinspiegel im Blut von Menschen und eignen sich daher zum Schutz gegen Herzkrank-40 heiten. Feinchemikalien wie mehrfach ungesättigte Fettsäuren (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) lassen sich aus tierischen Quellen, wie beispielsweise Fisch, isolieren oder mit Mikroorganismen durch Züchtung von Mikroorganismen, die so entwickelt worden sind, dass sie große Mengen eines oder mehrerer

45 gewünschter Moleküle produzieren und akkumulieren oder sezernieren, im großen Maßstab herstellen.

Fettsäuren und Triglyceride haben eine Vielzahl von Anwendungen in der Lebensmittelindustrie, der Tierernährung, der Kosmetik und im Pharmabereich. Je nachdem ob es sich um freie gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren oder um Triglyceride mit einem erhöhten 5 Gehalt an gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren handelt, sind sie für die unterschiedlichsten Anwendungen geeignet. Mehrfach ungesättigte Ω -3-Fettsäuren und Ω -6-Fettsäuren stellen dabei einen wichtigen Bestandteil der tierischen und menschlichen Nahrung dar. Aufgrund der heute üblichen Zusammensetzung der 10 menschlichen Nahrung ist ein Zusatz von mehrfach ungesättigten Ω -3-Fettsäuren, die bevorzugt in Fischölen vorkommen, zur Nahrung besonders wichtig. So werden beispielsweise mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie Docosahexaensäure (=DHA, C22:6^{A4,7,10,13,16,19}) oder Eisosapentaensäure (= EPA, C20: $5^{\Delta 5,8,11,14,17}$) Babynahrung zur Erhöhung 15 des Nährwertes zugesetzt. Der DHA wird dabei ein positiver Effekt auf die Entwicklung des Gehirns zugeschrieben.

Hauptsächlich werden die verschiedenen Fettsäuren und Triglyceride aus Mikroorganismen wie Mortierella oder aus Ölzeroden Pflanzen wie Soja, Raps, Sonnenblume, Algen wie Cryptocodinium oder Phaeodactylum und weiteren gewonnen, wobei sie in der Regel in Form ihrer Triacylglyceride (= Triglyceride = Triglycerole) anfallen. Sie können aber auch aus Tieren wie z.B. Fischen gewonnen werden. Die freien Fettsäuren werden vorteilhaft durch Verseifung hergestellt. Höhere mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie DHA, EPA, Arachidonsäure (= ARA, C20:4^{Δ5,8,11,14}), Dihomo-γ-linolensäure (C20:3^{Δ8,11,14}) oder Docosapentaensäure (DPA, C22:5^{Δ7,10,13,16,19}) lassen sich nicht aus Ölfruchtpflanzen wie Raps, Soja, Sonnenblume, Färberdistel oder anderen isolieren. Übliche natürliche Quellen für diese Fettsäuren sind Fische wie Hering, Lachs, Sardine, Goldbarsch, Aal, Karpfen, Forelle, Heilbutt, Makrele, Zander oder Thunfisch oder Algen.

Je nach Anwendungszweck sind Öle mit gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren bevorzugt, so sind z.B. in der humanen Ernährung Lipide mit ungesättigten Fettsäuren speziell mehrfach ungesättigten Fettsäuren bevorzugt. Den mehrfach ungesättigten Ω -3-Fettsäuren wir dabei ein positiver Effekt auf den Cholesterinspiegel im Blut und damit auf die Möglichkeit der Prävention einer Herzerkrankung zugeschrieben. Durch Zugabe dieser Ω -3-Fettsäuren zu Nahrung kann das Risiko einer Herzerkrankung, eines Schlaganfalls oder von Bluthochdruck deutlich verringert werden. Auch entzündliche speziell chronisch entzündliche Prozesse im Rahmen immunologischer Erkrankungen wie rheumatroider Arthritis lassen sich durch Ω -3-Fettsäuren positiv beeinflussen. Sie werden deshalb Lebensmitteln speziell diätischen Lebensmitteln zugegeben oder finden in Medikamenten Anwendung.

 Ω -6-Fettsäuren wie Arachidonsäure haben bei diesen rheumatischen Erkrankungen aufgrund unserer üblichen Nahrungsmittelzusammensetzung eher einen negativen Effekt auf diese Krankheiten.

- 5 Ω -3- und Ω -6-Fettsäuren sind Vorläufer von Gewebshormonen, den sogenannten Eicosanoiden wie den Prostaglandinen, die sich von der Dihomo- γ -linolensäure, der Arachidonsäure und der Eicosapentaensäure ableiten, den Thromoxanen und Leukotrienen, die sich von der Arachidonsäure und der Eicosapentaensäure ableiten. Eicosanoide (sog. PG₂-Serie), die aus Ω -6-Fettsäuren gebildet werden fördern in der Regel Entzündungsreaktionen, während Eicosanoide (sog. PG₃-Serie) aus Ω -3-Fettsäuren geringe oder keine entzündungsfördernde Wirkung haben.
- 15 Aufgrund ihrer positiven Eigenschaften hat es in der Vergangenheit nicht an Ansätzen gefehlt, Gene, die an der Synthese von Fettsäuren bzw. Triglyceriden beteiligt sind, für die Herstellung von Ölen in verschiedenen Organismen mit geändertem Gehalt an ungesättigten Fettsäuren verfügbar zu machen. So wird in
- 20 WO 91/13972 und seinem US-Äquivalent eine Δ -9-Desaturase beschrieben. In WO 93/11245 wird eine Δ -15-Desaturase in WO 94/11516 wird eine Δ -12-Desaturase beansprucht. Weitere Desaturasen werden beispielsweise in EP-A-0 550 162, WO 94/18337, WO 97/30582, WO 97/21340, WO 95/18222, EP-A-0 794 250, Stukey
- 25 et al., J. Biol. Chem., 265, 1990: 20144-20149, Wada et al., Nature 347, 1990: 200-203 oder Huang et al., Lipids 34, 1999: 649-659 beschrieben. Die biochemische Charakterisierung der verschiedenen Desaturasen ist jedoch bisher nur unzureichend erfolgt, da die Enzyme als membrangebundene Proteine nur sehr
- 30 schwer zu isolieren und zu charakterisieren sind (McKeon et al., Methods in Enzymol. 71, 1981: 12141-12147, Wang et al., Plant Physiol. Biochem., 26, 1988: 777-792). In der Regel erfolgt die Charakterisierung membrangebundener Desaturasen durch Einbringung in einen geeigneten Organismus, der anschließend auf Enzym-
- 35 aktivität mittels Edukt- und Produktanalyse untersucht wird. Δ-6-Desaturasen werden in WO 93/06712, US 5,614,393, US5614393, WO 96/21022, WO00/21557 und WO 99/27111 beschrieben und auch die Anwendung zur Produktion in transgenen Organismen beschrieben wie in WO98/46763 WO98/46764, WO9846765. Dabei wird auch die
- 40 Expression verschiedener Desaturasen wie in WO99/64616 oder WO98/46776 und Bildung polyungesättigter Fettsäuren beschrieben und beansprucht. Bzgl. der Effektivität der Expression von Desaturasen und ihren Einfluss auf die Bildung polyungesättigter Fettsäuren ist anzumerken, dass durch Expression einer einzelnen
- 45 Desaturase wie bisher beschrieben lediglich geringe Gehalte an Δ -6-ungesättigten Fettsäuren/Lipiden wie z.B. gamma-Linolensäure und Stearidonsäure erreicht wurden. Weiterhin wurde in der Regel

4

ein Gemisch aus ω 3 und ω 6 Fettsäuren erhalten, da alle bisher beschriebenen Δ -6-Desaturasen zum Beispiel Linolsäure (ω -6-Fettsäure) als auch α -Linolensäure (ω -3-Fettsäure) umsetzten.

- 5 Besonders geeignete Mikroorganismen zur Herstellung von PUFAs sind Mikroorganismen wie Thraustochytrien oder Schizochytrien-Stämme, Algen wie Phaeodactylum tricornutum oder Crypthecodinium-Arten, Ciliaten, wie Stylonychia oder Colpidium, Pilze, wie Mortierella, Entomophthora oder Mucor. Durch Stammselektion
- 10 ist eine Anzahl von Mutantenstämmen der entsprechenden Mikroorganismen entwickelt worden, die eine Reihe wünschenswerter
 Verbindungen, einschließlich PUFAs, produzieren. Die Mutation
 und Selektion von Stämmen mit verbesserter Produktion eines bestimmten Moleküls wie den mehrfach ungesättigten Fettsäuren ist
- 15 jedoch ein zeitraubendes und schwieriges Verfahren. Deshalb werden, wenn immer möglich wie oben beschrieben gentechnologische Verfahren bevorzugt. Mit Hilfe der vorgenannten Mikroorganismen lassen sich jedoch nur begrenzte Mengen der gewünschten mehrfach ungesättigten Fettsäuren wie DPA, EPA oder ARA herstellen. Wobei
- 20 diese in der Regel je nach verwendeten Mikroorganismus als Fettsäuregemische aus beispielsweise EPA, DPA und DHA anfallen.

Alternativ kann die Produktion von Feinchemikalien geeigneterweise über die Produktion in Pflanzen, die so entwickelt sind,

- 25 dass sie die vorstehend genannten PUFAs herstellen, im großen Maßstab durchgeführt werden. Besonders gut für diesen Zweck geeignete Pflanzen sind Ölfruchtpflanzen, die große Mengen an Lipidverbindungen enthalten wie Raps, Canola, Lein, Soja, Sonnenblumen, Borretsch und Nachtkerze. Aber auch andere Nutzpflanzen,
- 30 die Öle oder Lipide und Fettsäuren enthalten, sind gut geeignet, wie in der eingehenden Beschreibung dieser Erfindung erwähnt. Mittels herkömmlicher Züchtung ist eine Reihe von Mutantenpflanzen entwickelt worden, die ein Spektrum an wünschenswerten Lipiden und Fettsäuren, Cofaktoren und Enzymen produzieren.
- 35 Die Selektion neuer Pflanzensorten mit verbesserter Produktion eines bestimmten Moleküls ist jedoch ein zeitaufwändiges und schwieriges Verfahren oder sogar unmöglich, wenn die Verbindung in der entsprechenden Pflanze nicht natürlich vorkommt, wie im Fall von mehrfach ungesättigten C₁₈-, C₂₀-Fettsäuren und C₂₂-Fett-40 säuren und solchen mit längeren Kohlenstoffketten.

Aufgrund der positiven Eigenschaften ungesättigter Fettsäuren hat es in der Vergangenheit nicht an Ansätzen gefehlt, diese Gene, die an der Synthese von Fettsäuren bzw. Triglyceriden

45 beteiligt sind, für die Herstellung von Ölen in verschiedenen Pflanzen mit einem geändertem Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren verfügbar zu machen. Bisher konnten jedoch länger-

5

kettige mehrfach ungesättigte C_{20} - und/oder C_{22} -Fettsäuren wie EPA oder ARA nicht in Pflanzen hergestellt werden.

Es bestand daher die Aufgabe ein Verfahren zur Herstellung von 5 mehrfach ungesättigten Fettsäureestern und/oder freien mehrfach ungesättigten Fettsäuren mit mindestens drei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül zu entwickeln. Diese Aufgabe wurde durch das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I:

10

$$\begin{array}{c|c}
CH_2 & CH_2 \\
\hline
CH & CH_2 \\
\hline
CH_2 & CH_2 \\
\hline
CH_2 & CH_3
\end{array}$$
(I)

15

in transgenen Pflanzen mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% bezogen auf die gesamten Fettsäuren dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren folgende Schritte umfasst:

20

- a) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in eine Pflanze, die für ein Polypeptid mit einer Δ -6-Desaturaseaktivität codiert; sowie
- 25 b) Einbringen mindestens einer zweiten Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit einer $\Delta-6$ -Elongaseaktivität codiert; und
- c) gegebenenfalls Einbringen einer dritten Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit einer Δ -5-Desaturaseaktivität codiert;
 - d) anschließend kultivieren und ernten der Pflanzen; und
- 35 wobei die Variablen und Substituenten in der Formeln I folgende Bedeutung haben:
- R1 = -OH, Coenzym A-(Thioester), Phosphatidylcholin-, Phosphatidylethanolamin-, Phoshatidylglycerol-, Diphosphatidylglycerol-, Phosphatidylserin-, Phosphatidylinositol-,
 Sphingolipid-, Glycoshingolipid- oder einen Rest der
 folgenden allgemeinen Formel II

5

$$H_2C-O-R^2$$

 $HC-O-R^3$
 H_2C-O-C
(II)

R² = H, Phosphatidylcholin-, Phosphatidylethanolamin-, Phoshatid-ylglycerol-, Diphosphatidylglycerol-, Phosphatidylserin-, Phosphatidylinositol-, Shingolipid-, Glycoshingolipid-, Glycoshingolipid- oder gesättigtes oder ungesättigtes C₂-C₂₄-Alkylcarbonyl-,

 R^3 = H, gesättigtes oder ungesättigtes C_2 - C_{24} -Alkylcarbonyl-, oder

 ${f 15}$ R² und R³ unabhängig voneinander einen Rest der allgemeinen Formel Ia

20
$$CH_2$$
 CH_2 CH_2 CH_2 CH_3 CH_3 CH_3

n = 3,4 oder 6, m = 3, 4 oder 5 und p = 0 oder 3, bevorzugt bedeutet n = 3, m = 4 oder 5 und p = 0 oder 3.

R¹ bezeichnet in den Verbindungen der Formel I -OH (Hydroxyl-), AcetylCoenzym A-, Phosphatidylcholin-, Phosphatidylethanolamin-, Phoshatidylglycerol-, Diphosphatidylglycerol-, Phosphatidyl30 serin-, Phosphatidylinositol-, Sphingolipid-, Glycoshingolipid-oder einen Rest der folgenden allgemeinen Formel II

35
$$H_2C-O-R^2$$

 $HC-O-R^3$
 H_2C-O

Die vorgenannten Reste für \mathbb{R}^1 sind jeweils als Ester bzw. Thio-ester an die Verbindungen der allgemeinen Formel I gebunden.

R² bezeichnet in den Verbindungen der Formel II Wasserstoff, Phosphatidylcholin-, Phosphatidylethanolamin-, Phoshatidyl-glycerol-, Diphosphatidylglycerol-, Phosphatidylserin-, Phosphatidylinositol-, Shingolipid-, Glycoshingolipid-, Glycoshingolipid- oder gesättigtes oder ungesättigtes C₂-C₂₄-Alkylcarbonyl-.

7

Als ungesättigtes oder gesättigtes C2-C22-Alkylcarbonyl- seien Reste wie Ethylcarbonyl-, n-Propylcarbonyl-, n-Butylcarbonyl-, n-Pentylcarbonyl-, n-Hexylcarbonyl-, n-Heptylcarbonyl-, n-Octylcarbonyl-, n-Nonylcarbonyl-, n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbon-5 yl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten können. Bevorzugt 10 sind gesättigte oder ungesättigte C_{10} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbon-15 yl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Besonders bevorzugt sind gesättigte oder ungesättigte C_{10} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie C_{10} -Alkylcarbonyl-, C_{11} -Alkylcarbonyl-, C₁₂-Alkylcarbonyl-, C₁₃-Alkylcarbonyl-, C₁₄-Alkylcarbonyl-, C16-Alkylcarbonyl-, C18-Alkylcarbonyl-, C20-Alkylcarbon-20 yl-, C₂₂-Alkylcarbonyl- oder C₂₄-Alkylcarbonyl-Reste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Ganz besonders bevorzugt sind gesättigte oder ungesättigte C16-C22-Alkylcarbonylreste wie C_{16} -Alkylcarbonyl-, C_{18} -Alkylcarbonyl-, C_{20} -Alkylcarbonyl- oder C22-Alkylcarbonyl-Reste, die ein oder mehrere Doppelbindungen ent-25 halten. Bevorzugt enthalten die genannten Reste zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen. Besonders bevorzugt enthalten die Reste drei, vier oder fünf Doppelbindungen. Ganz besonders bevorzugt sind C18-Alkylcarbonylreste, die eine, zwei, drei oder vier Doppelbindungen enthalten, und C20-Alkylcarbonylreste, die drei, 30 vier oder fünf Doppelbindungen enthalten. Alle genannten Reste leiten sich von den entsprechenden Fettsäuren ab.

 ${\it R}^3$ bezeichnet in den Verbindungen der Formel II Wasserstoff, gesättigtes oder ungesättigtes ${\it C}_2{\it -C}_{24}{\it -Alkylcarbonyl}$.

35

Als ungesättigtes oder gesättigtes C₂-C₂₂-Alkylcarbonyl- seien Reste wie Ethylcarbonyl-, n-Propylcarbonyl-, n-Butylcarbonyl-, n-Pentylcarbonyl-, n-Hexylcarbonyl-, n-Heptylcarbonyl-, n-Octyl-carbonyl-, n-Nonylcarbonyl-, n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl- yl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecyl-carbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten können. Bevorzugt sind gesättigte oder ungesättigte C₁₀-C₂₂-Alkylcarbonylreste wie n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-,

20

n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Besonders bevorzugt sind gesättigte oder un-5 gesättigte C_{10} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie C_{10} -Alkylcarbonyl-, C_{11} -Alkylcarbonyl-, C₁₂-Alkylcarbonyl-, C₁₃-Alkylcarbonyl-, C₁₄-Alkylcarbonyl-, C16-Alkylcarbonyl-, C18-Alkylcarbonyl-, C20-Alkylcarbonyl-, C22-Alkylcarbonyl- oder C24-Alkylcarbonyl-Reste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Ganz besonders bevorzugt 10 sind gesättigte oder ungesättigte C_{16} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie C_{16} -Alkylcarbonyl-, C_{18} -Alkylcarbonyl-, C_{20} -Alkylcarbonyl- oder C_{22} -Alkylcarbonyl-Reste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Bevorzugt enthalten die genannten Reste zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen. Besonders bevorzugt enthalten die 15 Reste drei, vier oder fünf Doppelbindungen. Ganz besonders bevorzugt sind C_{18} -Alkylcarbonylreste, die eine, zwei, drei oder vier Doppelbindungen enthalten, und C_{20} -Alkylcarbonylreste, die drei, vier oder fünf Doppelbindungen enthalten. Alle genannten Reste leiten sich von den entsprechenden Fettsäuren ab.

 \mathbb{R}^2 und \mathbb{R}^3 bezeichnen weiterhin in den Verbindungen der Formel II unabhängig voneinander einen Rest der allgemeinen Formel Ia

$$\begin{array}{c|c}
CH_2 & CH_2 & CH_2 & CH_2 & CH_3 \\
\hline
CH_2 & CH_2 & CH_2 & CH_3 & CH_3
\end{array}$$

30 wobei n = 3.4 oder 6, m = 3.4 oder 5 und p = 0 oder 3 bedeutet, bevorzugt bedeutet n = 3, m = 4 oder 5 und p = 0 oder 3.

Die vorgenannten Reste R^1 , R^2 und R^3 können auch Substituenten wie Hydoxyl- oder Epoxigruppen tragen oder auch Dreifachbindungen 35 enthalten.

Bei den im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen handelt es sich um isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -5-, Δ -6-Desaturase- oder Δ -6-Elongase-40 aktivität codieren.

Die im Verfahren hergestellten Verbindungen der Formel I enthalten vorteilhaft eine Mischung aus unterschiedlichen Resten R¹, R² oder R³, die sich von unterschiedlichen Glyceriden ableiten 45 lassen. Weiterhin lassen sich die vorgenannten Reste von verschieden Fettsäuren wie kurzkettigen Fettsäuren mit 4 bis 6 C-

Atomen, mittelkettigen Fettsäuren mit 8 bis 12 C-Atomen oder

9

langkettigen Fettsäuren mit 14 bis 24 C-Atomen ableiten, bevorzugt sind die langkettigen Fettsäuren.

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden vorteilhaft Fettsäureester
5 (= Verbindungen der Formel I) mit mehrfach ungesättigten C₁₈-, C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuremolekülen mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäureester hergestellt. Bevorzugt enthalten diese Fettsäuremoleküle drei, vier oder fünf Doppelbindungen und führen vorteilhaft zur Synthese von γ-Linolensäure (= GLA, C18:3^{Δ6,9,12}), Stearidonsäure (= SDA, C18:4^{Δ6,9,12,15}), Dihomo-γ-Linolensäure (= DGLA, 20:3^{Δ8,11,14}), Eicosatetraensäure (= ETA, C20:4^{Δ5,8,11,14}), Arachidonsäure (ARA), Eicosapentaensäure (EPA) oder deren Mischungen, bevorzugt EPA und/oder ARA.

15 Die Fettsäureester mit mehrfach ungestättigten C₁₈-, C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuremolekülen können aus den Organismen, die für die Herstellung der Fettsäureester verwendet wurden, in Form eines Öls oder Lipids beispielsweise in Form von Verbindungen wie Sphingolipide, Phosphoglyceride, Lipide, Glycolipide wie Glycoshingolipid, Phospholipide wie Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylet

cholin, Phoshatidylserin, Phosphatidylglycerol, Phosphatidylinositol oder Diphosphatidylglycerol, Monoacylglyceride, Diacylglyceride, Triacylglyceride oder sonstige Fettsäureester wie die AcetylCoenzymA-Ester, die die mehrfach ungesättigten Fettsäuren

25 mit mindestens zwei bevorzugt drei Doppelbindungen enthalten, isoliert werden. Neben diesen Estern sind die mehrfach ungesättigten Fettsäuren auch als freie Fettsäuren oder gebunden in anderen Verbindungen in den Pflanzen enthalten. In der Regel liegen die verschiedenen vorgenannten Verbindungen (Fettsäure-

30 ester und frei Fettsäuren) in der Pflanze in einer ungefähren Verteilung von 80 bis 90 Gew.-% Triglyceride, 2 bis 5 Gew.-% Diglyceride, 5 bis 10 Gew.-% Monoglyceride, 1 bis 5 Gew.-% freie Fettsäuren, 2 bis 8 Gew.-% Phospholipide vor, wobei sich die Summe der verschiedenen Verbindungen zu 100 Gew.-% ergänzt.

35

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden die Verbindungen der allgemeinen Formel I mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-*, vorteilhaft von mindestens 2 Gew.-*, bevorzugt von mindestens 3 Gew.-*, besonders bevorzugt von mindestens 5 Gew.-*, ganz besonders bevorzugt von mindestens 10 Gew.-* bezogen auf die gesamten Fettsäuren in der transgenen Pflanze hergestellt. Da im erfindungsgemäßen Verfahren von den Ausgangsverbindungen Linolsäure (C18:2) bzw. Linolensäure (C18:3) mehrere Reaktionsschritte durchlaufen werden, fallen die Endprodukte des Verfahrens wie 45 beispielsweise Arachidonsäure (ARA) oder Eicosapentaensäure (EPA) nicht als Reinprodukte an, es sind immer auch geringe Spuren der

Vorstufen im Endprodukt enthalten. Sind in der Ausgangspflanze

sowohl Linolsäure als auch Linolensäure vorhanden, so liegen die Endprodukte wie ARA und EPA als Mischungen vor. Die Vorstufen sollten vorteilhaft nicht mehr als 20 Gew.-%, bevorzugt nicht mehr als 15 Gew.-%, besonders bevorzugt nicht als 10 Gew.-%,

- 5 ganz besonders bevorzugt nicht mehr als 5 Gew.-% bezogen auf die Menge des jeweilige Endprodukts betragen. Vorteilhaft werden in einer transgenen Pflanze als Endprodukte nur ARA oder nur EPA im erfindungsgemäßen Verfahren gebunden oder als freie Säuren (siehe Verbindungen der allgemeinen Formel I) hergestellt. Werden beide
- 10 Verbindungen (ARA + EPA) gleichzeitig hergestellt, werden sie vorteilhaft in einem Verhältnis von mindesten 1:2 (EPA:ARA), vorteilhaft von mindestens 1:3, bevorzugt von 1:4, besonders bevorzugt von 1:5 hergestellt.
- 15 Als Organismus für die Herstellung im erfindungsgemäßen Verfahren kommen prinzipiell alle Pflanzen wie Moose, Algen, zweikeimblättrige oder einkeimblättrige Pflanzen in Frage. Vorteilhaft werden Organismen im erfindungsgemäßen Verfahren verwendet, die zu den Öl-produzierenden Organismen gehören, das heißt die für
- 20 die Herstellung von Ölen verwendet werden, wie Algen wie Crypthecodinium, Phaeodactylum oder Pflanzen, insbesondere Pflanzen bevorzugt Ölfruchtpflanzen, die große Mengen an Lipidverbindungen enthalten, wie Erdnuss, Raps, Canola, Sonnenblume, Safflor (Färberdistel), Mohn, Senf, Hanf, Rhizinus, Olive, Sesam,
- 25 Calendula, Punica, Nachtkerze, Königskerze, Distel, Wildrosen, Haselnuss, Mandel, Macadamia, Avocado, Lorbeer, Kürbis, Lein, Soja, Pistazien, Borretsch, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss oder Walnuss) oder Feldfrüchte, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Baumwolle, Maniok, Pfeffer, Tagetes,
- 30 Solanaceen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Alfalfa oder Buschpflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten sowie ausdauernde Gräser und Futterfeldfrüchte. Bevorzugte erfindungsgemäße Pflanzen sind Ölfruchtpflanzen, wie Erdnuss, Raps, Canola, Sonnenblume, Safflor (Färberdistel),
- 35 Mohn, Senf, Hanf, Rhizinus, Olive, Calendula, Punica, Nachtkerze, Kürbis, Lein, Soja, Borretsch, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss).

 Besonders bevorzugt sind C18:2- und/oder C18:3-Fettsäure reiche Pflanzen wie Sonnenblume, Färberdistel, Tabak, Königskerze, Sesam, Baumwolle, Kürbis, Mohn, Nachtkerze, Walnuss, Lein, Hanf,
- 40 Distel oder Färberdistel. Ganz besonders bevorzugt sind Pflanzen wie Färberdistel, Sonnenblume, Mohn, Nachtkerze, Walnuss, Lein oder Hanf.
- Durch die enzymatische Aktivität der im erfindungsgemäßen Ver- 45 fahren verwendeten Nukleinsäuren, die für Polypeptide mit Δ -5-, Δ -6-Desaturase- oder Δ -6-Elongaseaktivität codieren, können unterschiedliche Verbindungen der Formel I hergestellt werden.

11

Je nach Auswahl der für das erfindungsgemäße Verfahren verwendeten Pflanze lassen sich Mischungen der verschiedenen Verbindungen der allgemeinen Formel I oder einzelne Verbindungen wie EPA oder ARA in freier oder gebundener Form herstellen. Je nach-5 dem welche Fettsäurezusammensetzung in der Ausgangspflanze vorherrscht (C18:2- oder C18:3-Fettsäuren) entstehen so Verbindungen der allgemeinen Formel I, die sich von C18:2-Fettsäuren ableiten, wie GLA, DGLA oder ARA enthaltende Verbindungen der Formel I oder, die sich von C18:3-Fettsäuren ableiten, wie SDA, ETA oder 10 EPA enthaltende Verbindungen der Formel I. Liegt in der für das Verfahren verwendeten Pflanze als ungesättigte Fettsäure nur Linolsäure (= LA, C18: $2^{\Delta 9,12}$) vor, so können als Produkte des Verfahrens nur GLA, DGLA und ARA entstehen, die als freie Fettsäuren oder gebunden vorliegen können. Ist in der im Verfahren 15 verwendeten Pflanze als ungesättigte Fettsäure nur α -Linolensäure $(= ALA, C18:3^{\Delta 9,12,15})$ beispielsweise wie in Lein, so können als Produkte des Verfahrens nur SDA, ETA und EPA entstehen, die wie oben beschrieben als freie Fettsäuren oder gebunden vorliegen können. Durch Modifikation der Aktivität der an der Synthese 20 beteiligten Enzyme (Δ -5-, Δ -6-Desaturase und Δ -6-Elongase) bzw. durch Einbringen nur der ersten beiden Gene (Δ -6-Desaturase und Δ -6-Elongase) der Synthesekette lassen sich gezielt in den vorgenannten Pflanzen nur einzelne Produkte herstellten (siehe Figur I). Durch die Aktivität der Δ -6-Desaturase und Δ -6-Elongase 25 entstehen GLA und DGLA bzw. SDA und ETA, je nach Ausgangspflanze und ungesättigter Fettsäure. Bevorzugt entstehen DGLA bzw. ETA oder deren Mischungen. Wird die Δ -5-Desaturase zusätzlich in Pflanze eingebracht, so entstehen zusätzlich ARA oder EPA. Vorteilhaft werden nur ARA oder EPA oder deren Mischungen 30 synthetisiert, abhängig von der in der Pflanze vorliegenden Fettsäure, die als Ausgangssubstanz für die Synthese dient. Da es sich um Biosyntheseketten handelt, liegen die jeweiligen Endprodukte nicht als Reinsubstanzen in den Pflanzen vor. Es sind immer auch geringe Mengen der Vorläuferverbindungen im Endprodukt 35 enthalten. Diese geringen Mengen betragen weniger als 20 Gew.-%, vorteilhaft weniger als 15 Gew.-%, besonders vorteilhaft weniger als 10 Gew.-%, ganz besonders vorteilhaft weniger als 5, 4, 3, 2 oder 1 Gew.-% bezogen auf das Endprodukt DGLA, ETA oder deren Mischungen bzw. ARA, EPA oder deren Mischungen.

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden sind unter transgenen Pflanzen auch Pflanzenzellen, -gewebe, -organe oder ganze Pflanzen zu verstehen, die zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I angezüchtet werden. Unter Anzucht ist beispielsweise die Kultivierung der transgenen Pflanzenzellen, -gewebe oder -organe auf einem Nährmedium oder der ganzen Pflanze

12

auf bzw. in einem Substrat beispielsweise in Hydrokultur oder auf einem Ackerboden zu verstehen.

Im erfindungsgemäßen Verfahren können prinzipiell alle
5 Nukleinsäuren verwendet werden, die für Polypeptide mit Δ-5-, Δ-6-Desaturase- oder Δ-6-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft Stammen diese Nukleinsäuren aus Pflanzen wie Algen wie Isochrysis oder Crypthecodinium, Diatomeen wie Phaeodactylum, Moose wie Physcomitrella, Ceratodon oder höheren Pflanzen

- 10 wie den Primulaceae wie Aleuritia, Calendula stellata, Osteospermum spinescens oder Osteospermum hyoseroides, Mikroorganismen wie Pilzen wie Aspergillus, Thraustochytrium, Phytophtora, Entomophthora, Mucor oder Mortierella, Hefen oder Tieren wie Nematoden wie Caenorhabditis, Insekten oder dem Mensch. Vorteilhaft
- 15 stammen die Δ -5-, Δ -6-Desaturase- oder Δ -6-Elongasegene aus Pilzen oder aus Pflanzen wie Algen oder Moosen, bevorzugt aus Pflanzen.

Vorteilhaft wird im erfindungsgemäßen Verfahren eine Nuklein20 säuresequenz ausgewählt aus der Gruppe den in SEQ ID NO: 1, 3, 5,
7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 oder deren
Derivat oder Homologe, die für Polypeptide codieren, die noch die
enzymatische Aktivität besitzen. Diese Sequenzen werden einzeln
oder in Kombination in Expressionskonstrukte cloniert, diese

- 25 Expressionskonstrukte sind in den Sequenzen SEQ ID NO: 33-37 wiedergegeben. Diese Expressionskonstrukte ermöglichen eine optimale Synthese der im erfindungsgemäßen Verfahren produzierten Verbindungen der allgemeinen Formel I.
- 30 Bei einer bevorzugten Ausführungsform umfasst das Verfahren ferner den Schritt des Gewinnens einer Zelle, die die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen, die für eine Δ -5- oder Δ -6-Desaturase und eine Δ -6-Elongase codieren, enthält, wobei eine Zelle mit den Nukleinsäuresequenz, einem Genkonstrukt oder
- 35 einem Vektor, welche die Expression der Δ -5-, Δ -6-Desaturase-oder Δ -6-Elongasenukleinsäure allein oder in Kombination herbeiführen, transformiert wird. Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst dieses Verfahren ferner den Schritt des Gewinnens der Feinchemikalie aus der Kultur. Die so hergestellte
- 40 Zelle ist vorteilhaft eine Zelle einer Ölfruchtpflanze wie beispielsweise Erdnuss, Raps, Canola, Lein, Soja, Safflower, Hanf, Sonnenblumen oder Borretsch.

Unter transger Pflanze im Sinne der Erfindung ist zu verstehen, 45 daß die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren nicht an ihrer natürlichen Stelle im Genom eines Organismus sind, dabei können die Nukleinsäuren homolog oder heterolog exprimiert werden.

PCT/EP03/04297 WO 03/093482 13

Tansgen bedeutet aber auch, dass die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren an ihrem natürlichen Platz im Genom eines Organismus sind, dass jedoch die Sequenz gegenüber der natürlichen Sequenz verändert wurde und/oder das die Regulationssequenzen, der natür-

5 lichen Sequenzen verändert wurden. Bevorzugt ist unter transgen die Expression der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren an nicht natürlicher Stelle im Genom zu verstehen, das heißt eine homologe oder bevorzugt heterologe Expression der Nukleinsäuren liegt vor. Bevorzugte transgene Pflanzen sind die Ölfruchtpflanzen.

10

Transgene Pflanzen, die die im erfindungsgemäßen Verfahren synthetisierten Verbindungen der Formel I enthalten, können direkt vermarktet werden ohne die synthetisierten Verbindungen zu isolieren. Unter Pflanzen im erfindungsgemäßen Verfahren 15 sind alle Pflanzenteile, Pflanzenorgane wie Blatt, Stiel, Wurzel, Knollen oder Samen oder die gesamte Pflanze zu verstehen. Der Samen umfasst dabei alle Samenteile wie die Samenhüllen, Epidermis- und Samenzellen, Endosperm oder Embyrogewebe. Die im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Verbindungen können 20 aber auch aus den Pflanzen in Form ihrer Öle, Fett, Lipide und/ oder freien Fettsäuren isoliert werden. Durch dieses Verfahren hergestellte Verbindungen der Formel I lassen sich durch Ernten der Organismen entweder aus der Kultur, in der sie wachsen, oder vom Feld ernten. Dies kann über Pressen oder Extraktion 25 der Pflanzenteile bevorzugt der Pflanzensamen erfolgen. Dabei können die Öle, Fette, Lipide und/oder freien Fettsäuren durch sogenanntes kalt schlagen oder kalt pressen ohne Zuführung von Wärme durch Pressen gewonnen werden. Damit sich die Pflanzenteile speziell die Samen leichter aufschließen lassen, werden sie vor-30 her zerkleinert, gedämpft oder geröstet. Die so vorbehandelten Samen können anschließend gepresst werden oder mit Lösungsmittel wie warmen Hexan extrahiert werden. Anschließend wird das Lösungsmittel wieder entfernt. Auf diese Weise können mehr als 96 % der im Verfahren hergestellten Verbindungen isoliert 35 werden. Anschließend werden die so erhaltenen Produkte weiter bearbeitet, das heißt raffiniert. Dabei werden zunächst die Pflanzenschleime und Trübstoffe. Die sogenannte Entschleimung kann enzymatisch oder beispielsweise chemisch/physikalisch durch Zugabe von Säure wie Phosphorsäure erfolgen. Anschließend werden 40 die freien Fettsäuren durch Behandlung mit einer Base beispielsweise Natronlauge entfernt. Das erhaltene Produkt wird zur Entfernung der im Produkt verbliebenen Lauge mit Wasser gründlich

gewaschen und getrocknet. Um die noch im Produkt enthaltenen Farbstoffe zu entfernen werden die Produkte einer Bleichung mit 45 beispielsweise Bleicherde oder Aktivkohle unterzogen. Zum Schluss

14

wird das Produkt noch beispielsweise mit Wasserdampf noch desodoriert.

Vorzugsweise sind die durch dieses Verfahren produzierten PUFAs $\mathbf{5}$ C_{18} - oder C_{20-22} -Fettsäuremoleküle mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise drei, vier, bei Kombination mit einer weiteren Elongasen und einer Δ -4 Desaturase fünf oder sechs Doppelbindungen. Diese C_{18} - oder C_{20-22} -Fettsäuremoleküle lassen sich aus dem Organismus in Form eines Öls, Lipids oder einer freien Fettsäure isolieren. Geeignete Organismen sind beispielsweise die vorstehend erwähnten. Bevorzugte Organismen sind transgene Pflanzen.

Eine erfindungsgemäße Ausführungsform sind Öle, Lipide oder Fett15 säuren oder Fraktionen davon, die durch das oben beschriebene
Verfahren hergestellt worden sind, besonders bevorzugt Öl, Lipid
oder eine Fettsäurezusammensetzung, die PUFAs umfassen und von
transgenen Pflanzen herrühren.

20 Eine weitere erfindungsgemäße Ausführungsform ist die Verwendung des Öls, Lipids oder der Fettsäurezusammensetzung in Futtermitteln, Nahrungsmitteln, Kosmetika oder Pharmazeutika.

Unter dem Begriff "Öl" oder "Fett" wird ein Fettsäuregemisch 25 verstanden, das ungesättigte, gesättigte, vorzugsweise veresterte Fettsäure(n) enthält. Bevorzugt ist, dass das Öl oder Fett einen hohen Anteil an ungesättigter, unkonjugierter veresterter Fettsäure(n), insbesondere Linolsäure, γ -Linolensäure, Dihomo- γ -linolensäure, Arachidonsäure, α -Linolensäure, Stearidonsäure, Eicosa-30 tetraensäure oder Eicosapentaensäure hat. Vorzugsweise ist der Anteil an ungesättigten veresterten Fettsäuren ungefähr 30 %, mehr bevorzugt ist ein Anteil von 50 %, noch mehr bevorzugt ist ein Anteil von 60 %, 70 %, 80 % oder mehr. Zur Bestimmung kann z.B. der Anteil an Fettsäure nach Überführung der Fettsäuren in 35 die Methylestern durch Umesterung gaschromatographisch bestimmt werden. Das Öl oder Fett kann verschiedene andere gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren, z.B. Calendulasäure, Palmitin-, Stearin-, Ölsäure etc., enthalten. Insbesondere kann je nach Ausgangspflanze der Anteil der verschiedenen Fettsäuren in dem Öl 40 oder Fett schwanken.

Bei den im Verfahren hergestellten Verbindungen der Formel I, die mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen enthalten, handelt es sich um Sphingolipide, Phosphoglyceride, Lipide, Glycolipide, Phospholipide, Monoacylglycerin, Diacylglycerin, Triacylglycerin oder sonstige Fettsäureester. 15

Aus den so im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Verbindungen der allgemeinen Formel I lassen sich die enthaltenden mehrfach ungesättigten Fettsäuren beispielsweise über eine Alkalibehandlung beispielsweise wäßrige KOH oder NaOH oder saure 5 Hydrolyse vorteilhaft in Gegenwart eines Alkohols wie Methanol oder Ethanol oder über eine enzymatische Abspaltung freisetzen und isolieren über beispielsweise Phasentrennung und anschließender Ansäuerung über z.B. H₂SO₄. Die Freisetzung der Fettsäuren kann auch direkt ohne die vorhergehend beschriebene Aufarbeitung 10 erfolgen.

Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren können nach Einbringung in eine Pflanzenzelle bzw. Pflanze entweder auf einem separaten Plasmid liegen oder in das Genom der Wirtszelle integriert sein. Bei Integration in das Genom kann die Integration zufallsgemäß sein oder durch derartige Rekombination erfolgen, dass das native Gen durch die eingebrachte Kopie ersetzt wird, wodurch die Produktion der gewünschten Verbindung durch die Zelle moduliert wird, oder durch Verwendung eines Gens in trans, so 20 dass das Gen mit einer funktionellen Expressionseinheit, welche mindestens eine die Expression eines Gens gewährleistende Sequenz und mindestens eine die Polyadenylierung eines funktionell transkribierten Gens gewährleistende Sequenz enthält, funktionell verbunden ist. Vorteilhaft werden die Nukleinsäuren über Multiexpressionskassetten oder Konstrukte zur multiparallelen samenspezifischen Expression von Genen in die Pflanzen gebracht.

Moose und Algen sind die einzigen bekannten Pflanzensysteme, die erhebliche Mengen an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, wie 30 Arachidonsäure (ARA) und/oder Eicosapentaensäure (EPA) und/oder Docosahexaensäure (DHA) herstellen. Moose enthalten PUFAs in Membranlipiden während Algen, algenverwandte Organismen und einige Pilze auch nennenswerte Mengen an PUFAs in der Triacylglycerolfraktion akkumulieren. Daher eignen sich Nukleinsäure35 moleküle, die aus solchen Stämmen isoliert werden, die PUFAs auch in der Triacylglycerolfraktion akkumulieren, besonders vorteilhaft für das erfindungsgemäße Verfahren und damit zur Modifikation des Lipid- und PUFA-Produktionssystems in einem Wirt, insbesondere Pflanzen, wie Ölfruchtpflanzen, beispielsweise 40 Raps, Canola, Lein, Hanf, Soja, Sonnenblumen, Borretsch. Sie sind deshalb vorteilhaft im erfindungsgemäßen Verfahren verwendbar.

Die Herstellung einer Triensäure mit C_{18} -Kohlenstoffkette mithilfe von Desaturasen konnte bisher gezeigt werden. In diesen 45 literaturbekannten Verfahren wurde die Herstellung von γ -Linolensäure beansprucht. Bisher konnte jedoch niemand die Herstellung sehr langkettiger mehrfach ungesättigter Fettsäuren (mit C_{20} - und

16

längerer Kohlenstoffkette sowie von Triensäuren und höher ungesättigten Typen) allein durch modifizierte Pflanzen zeigen.

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen langkettiger PUFAs müssen 5 die mehrfach ungesättigten C_{18} -Fettsäuren zunächst durch die enzymatische Aktivität einer Desaturase zunächst desaturiert und anschließend über eine Elongase um mindestens zwei Kohlenstoffatome verlängert werden. Nach einer Elongationsrunde führt diese Enzymaktivität zu C_{20} -Fettsäuren, und nach zwei oder drei

- 10 Elongationsrunden zu C_{22} oder C_{24} -Fettsäuren. Die Aktivität der erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Desaturasen und Elongasen führt vorzugsweise zu C_{18} -, C_{20} und/oder C_{22} -Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise mit drei, vier oder fünf Doppelbindungen, besonders bevor-
- 15 zugt zu C_{18} und/oder C_{20} -Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise mit drei, vier oder fünf Doppelbindungen im Molekül. Nachdem eine erste Desaturierung und die die Verlängerung stattgefunden hat, können weitere Desaturierungsschritte wie z.B. eine solche in Δ -5-Position erfolgen.
- 20 Besonders bevorzugt als Produkte des erfindungsgemäßen Verfahrens sind Arachidonsäure und Eicosapentaensäure. Die C₁₈-Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen in der Fettsäure können durch die erfindungsgemäße enzymatische Aktivität in Form der freien Fettsäure oder in Form der Ester, wie Phospholipide, Glycolipide,
- 25 Sphingolipide, Phosphoglyceride, Monoacylglycerin, Diacylglycerin oder Triacylglycerin, verlängert werden.

Unter der Verwendung von Klonierungsvektoren in Pflanzen und bei der Pflanzentransformation, wie denjenigen, die veröffent-

- 30 licht sind in und dort zitiert sind: Plant Molecular Biology and Biotechnology (CRC Press, Boca Raton, Florida), Kapitel 6/7, S. 71-119 (1993); F.F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, 15-38;
- 35 B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-143; Potrykus, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991), 205-225)), lassen sich die Nukleinsäuren zur gentechnologischen Veränderung eines
- 40 breiten Spektrums an Pflanzen verwenden, so dass diese ein besserer oder effizienterer Produzent eines oder mehrerer von Lipiden hergeleiteter Produkte, wie PUFAs, wird. Diese verbesserte Produktion oder Effizienz der Produktion eines von Lipiden hergeleiteten Produktes, wie PUFAs, kann durch direkte
- **45** Wirkung der Manipulation oder eine indirekte Wirkung dieser Manipulation hervorgerufen werden.

Es gibt eine Reihe von Mechanismen, durch die die Veränderung eines erfindungsgemäßen Desaturase-Proteins die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion einer Feinchemikalie aus einer Ölfruchtpflanze oder einem Mikroorganismus aufgrund 5 eines veränderten Proteins direkt beeinflussen kann. Die Anzahl oder Aktivität des Desaturase-Proteins oder -Gens sowie von Genkombinationen von Desaturasen und Elongasen kann erhöht sein, so dass größere Mengen dieser Verbindungen de novo hergestellt werden, weil den Organismen diese Aktivität und Fähigkeit zur 10 Biosynthese vor dem Einbringen des entsprechenden Gens fehlte. Entsprechendes gilt für die Kombination mit weiteren Desaturasen oder Elongasen oder weiteren Enzymen aus dem Lipidstoffwechsel. Auch die Verwendung verschiedener divergenter, d.h. auf DNA-Sequenzebene unterschiedlicher Sequenzen kann dabei vorteilhaft 15 sein bzw. die Verwendung von Promotoren zur Genexpression, die eine andere zeitliche Genexpression z.B. abhängig vom Reifegrad

eines Samens oder Öl-speichernden Gewebes ermöglicht.

17

PCT/EP03/04297

WO 03/093482

Durch das Einbringen eines Desaturase- und/oder Elongase-Gens 20 oder mehrerer Desaturase- und Elongase-Gene in einen Organismus allein oder in Kombination mit anderen Genen in eine Zelle kann nicht nur den Biosynthesefluss zum Endprodukt erhöhen, sondern auch die entsprechende Triacylglycerin-Zusammensetzung erhöhen oder de novo schaffen. Ebenso kann die Anzahl oder Aktivität 25 anderer Gene, die am Import von Nährstoffen, die zur Biosynthese einer oder mehrerer Feinchemikalien (z.B. Fettsäuren, polaren und neutralen Lipiden) nötig sind, erhöht sein, so dass die Konzentration dieser Vorläufer, Cofaktoren oder Zwischenverbindungen innerhalb der Zellen oder innerhalb des Speicher-30 kompartiments erhöht ist, wodurch die Fähigkeit der Zellen zur Produktion von PUFAs, wie im folgenden beschrieben, weiter gesteigert wird. Fettsäuren und Lipide sind selbst als Feinchemikalien wünschenswert; durch Optimierung der Aktivität oder Erhöhung der Anzahl einer oder mehrerer Desaturasen und/oder 35 Elongasen, die an der Biosynthese dieser Verbindungen beteiligt sind, oder durch Zerstören der Aktivität einer oder mehrerer Desaturasen, die am Abbau dieser Verbindungen beteiligt sind, kann es möglich sein, die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion von Fettsäure- und Lipidmolekülen aus Pflanzen zu 40 steigern.

Die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten isolierten Nukleinsäuremoleküle codieren für Proteine oder Teilen von diesen, wobei die Proteine oder das einzelne Protein oder Teilen davon eine Aminosäuresequenz enthält, die ausreichend homolog zu einer Aminosäuresequenz der Sequenz SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 ist, so dass

18

das Protein oder der Teil davon eine Desaturase- oder Elongase-Aktivität beibehält. Vorzugsweise hat das Protein oder der Teil davon, das/der von dem Nukleinsäuremolekül kodiert wird, seine wesentliche enzymatische Aktivität und die Fähigkeit, am Stoff-5 wechsel von zum Aufbau von Zellmembranen von Pflanzen notwendigen Verbindungen oder am Transport von Molekülen über diese Membranen teilzunehmen. Vorteilhaft ist das von den Nukleinsäuremolekülen kodierte Protein zu mindestens etwa 50 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 % und stärker bevorzugt mindestens etwa 70 %, 80 % oder 10 90 % und am stärksten bevorzugt mindestens etwa 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder mehr homolog zu einer Aminosäuresequenz der Sequenz SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32. Bevorzugt ist das Protein ein Volllängen-Protein, das im wesentlichen in Teilen homolog zu einer gesamten 15 Aminosäuresequenz der SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 (die von dem in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 gezeigten offenen Leserahmen herrührt) ist. Im Sinne der Erfindung ist unter Homologie oder homolog, Identität oder identisch zu ver-20 stehen.

Unter wesentlicher enzymatischer Aktivität der verwendeten Desaturasen und der Elongase ist zu verstehen, dass sie gegenüber den durch die Sequenzen mit SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 codierten Proteinen/Enzymen im Vergleich noch mindestens eine enzymatische Aktivität von mindestens 10 %, bevorzugt 20 %, besonders bevorzugt 30 % und ganz besonders 40 % aufweisen und damit am Stoffwechsel von zum Aufbau von Fettsäuren in einer Pflanzenzelle notwendigen Verbindungen oder am Transport von Molekülen über Membranen teilnehmen können, wobei desaturierte C18- oder C20-22-Kohlenstoffketten mit Doppelbindungen an mindestens zwei, vorteilhaft drei, vier oder fünf Stellen gemeint ist.

- 35 Vorteilhaft im Verfahren verwendbare Nukleinsäuren stammen aus Pilzen oder Pflanzen wie Algen oder Moosen wie den Gattungen Physcomitrella, Thraustochytrium, Phytophtora, Ceratodon, Isochrysis, Aleurita, Muscarioides, Mortierella, Borago, Phaeodactylum, Crypthecodinium oder aus Nematoden wie Ceanorhabditis,
- 40 speziell aus den Gattungen und Arten Physcomitrella patens, Phytophtora infestans, Ceratodon purpureus, Isochrysis galbana, Aleurita farinosa, Muscarioides viallii, Mortierella alpina, Borago officinalis, Phaeodactylum tricormutum oder Ceanorhabditis elegans.

19

Alternativ können die verwendeten isolierten Nukleotidsequenzen für Desaturasen oder Elongasen codieren, die an eine Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 hybridisieren, z.B. unter stringenten 5 Bedingungen hybridisieren.

Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen werden vorteilhaft in einer Expressionskassette, die die Expression der Nukleinsäuren in Pflanzen ermöglicht, eingebracht.

Vorteilhafte Expressionskassetten werden in SEQ ID NO: 33 bis 37 wiedergegeben. Dabei werden die für die Desaturasen und/oder die Elongasen codierenden Nukleinsäuresequenzen mit einem oder mehreren Regulationssignalen vorteilhafterweise zur Erhöhung 15 der Genexpression funktionell verknüpft. Diese regulatorischen Sequenzen sollen die gezielte Expression der Gene und der Proteinexpression ermöglichen. Dies kann beispielsweise je nach Wirtsorganismus bedeuten, dass das Gen erst nach Induktion exprimiert und/oder überexprimiert wird, oder dass es sofort 20 exprimiert und/oder überexprimiert wird. Beispielsweise handelt es sich bei diesen regulatorischen Sequenzen um Sequenzen an die Induktoren oder Repressoren binden und so die Expression der Nukleinsäure regulieren. Zusätzlich zu diesen neuen Regulationssequenzen oder anstelle dieser Sequenzen kann die natürliche 25 Regulation dieser Sequenzen vor den eigentlichen Strukturgenen noch vorhanden sein und gegebenenfalls genetisch verändert worden sein, so dass die natürliche Regulation ausgeschaltet und die Expression der Gene erhöht wurde. Die Expressionskassette (= Expressionskonstrukt = Genkonstrukt) kann aber auch ein-30 facher aufgebaut sein, das heißt es wurden keine zusätzlichen Regulationssignale vor die Nukleinsäuresequenz oder dessen Derivate inseriert und der natürliche Promotor mit seiner Regulation wurde nicht entfernt. Stattdessen wurde die natürliche Regulationssequenz so mutiert, dass keine Regulation mehr erfolgt 35 und/oder die Genexpression gesteigert wird. Diese veränderten Promotoren können in Form von Teilsequenzen (= Promotor mit Teilen der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen) auch allein vor das natürliche Gen zur Steigerung der Aktivität gebracht werden. Das Genkonstrukt kann außerdem vorteilhafterweise auch 40 eine oder mehrere sogenannte "enhancer Sequenzen" funktionell verknüpft mit dem Promotor enthalten, die eine erhöhte Expression der Nukleinsäuresequenz ermöglichen. Auch am 3'-Ende der DNA-Sequenzen können zusätzliche vorteilhafte Sequenzen inseriert werden wie weitere regulatorische Elemente oder Terminatoren.

45 Die $\Delta 5$ -Desaturase- $/\Delta 6$ -Desaturase und/oder $\Delta 6$ -Elongase-Gene können in einer oder mehreren Kopien in der Expressionskassette (= Genkonstrukt) enthalten sein. Vorteilhaft liegt nur jeweils eine

Kopie der Gene in der Expressionskassette vor. Dieses Genkonstrukt oder die Genkonstrukte können zusammen im Wirtsorganismus exprimiert werden. Dabei kann das Genkonstrukt oder die Genkonstrukte in einem oder mehreren Vektoren inseriert sein und frei in der Zelle vorliegen oder aber im Genom inseriert sein. Es ist vorteilhaft für die Insertion weiterer Gene im Wirtsgenom, wenn die zu exprimierenden Gene zusammen in einem Genkonstrukt vorliegen.

10 Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei wie oben beschrieben vorzugsweise die Genexpression der eingeführten Gene positiv beeinflussen und dadurch erhöhen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung sind ein oder mehrere
20 Genkonstrukte, die eine oder mehrere Sequenzen enthalten, die durch Seq ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 definiert sind und gem. SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 Polypeptide kodieren. Die genannten Desaturasen führen dabei eine Doppelbindung in Δ-5 oder Δ-6-Position ein, wobei das Substrat ein, zwei, drei oder vier Doppelbindungen aufweisen. Die Elongase (Δ-6-Elongase) besitzt eine Enzymaktivität, die eine Fettsäure um mindestens zwei Kohlenstoffatome verlängert. Gleiches gilt für ihre Homologen, Derivate oder Analoga, die funktionsfähig mit einem oder mehreren Regulationssignalen, vorteilhafterweise zur Steigerung der Genexpression, verbunden sind.

Vorteilhafte Regulationssequenzen für das neue Verfahren liegen beispielsweise in Promotoren vor, wie dem cos-, tac-, trp-, tet-, trp-tet-, lpp-, lac-, lpp-lac-, lacIq-, T7-, T5-, T3-, gal-, trc-, ara-, SP6-, λ-P_R- oder λ-P_L-Promotor und werden vorteilhafterweise in Gram-negativen Bakterien angewendet. Weitere vorteilhafte Regulationssequenzen liegen beispielsweise in den Gram-positiven Promotoren amy und SPO2, in den Hefe- oder Pilzpromotoren ADC1, 40 MFα, AC, P-60, CYC1, GAPDH, TEF, rp28, ADH oder in den Pflanzen-promotoren CaMV/35S [Franck et al., Cell 21 (1980) 285-294], PRP1 [Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993)], SSU, OCS, lib4, usp, STLS1, B33, nos oder im Ubiquitin- oder Phaseolin-Promotor vor. In diesem Zusammenhang vorteilhaft sind ebenfalls induzier-45 bare Promotoren, wie die in EP-A-0 388 186 (Benzylsulfonamid-induzierbar), Plant J. 2, 1992:397-404 (Gatz et al., Tetra-

cyclin-induzierbar), EP-A-0 335 528 (Abzisinsäure-induzierbar)

21

oder WO 93/21334 (Ethanol- oder Cyclohexenol-induzierbar) beschriebenen Promotoren. Weitere geeignete Pflanzenpromotoren sind der Promotor von cytosolischer FBPase oder der ST-LSI-Promotor der Kartoffel (Stockhaus et al., EMBO J. 8, 1989, 2445), der 5 Phosphoribosylpyrophosphatamidotransferase-Promotor aus Glycine max (Genbank-Zugangsnr. U87999) oder der in EP-A-0 249 676 beschriebene nodienspezifische Promotor. Besonders vorteilhafte Promotoren sind Promotoren, welche die Expression in Geweben ermöglichen, die an der Fettsäurebiosynthese beteiligt sind. Ganz 10 besonders vorteilhaft sind samenspezifische Promotoren, wie der ausführungsgemäße USP Promotor aber auch andere Promotoren wie der LeB4-, DC3, Phaseolin- oder Napin-Promotor. Weitere besonders vorteilhafte Promotoren sind samenspezifische Promotoren, die für monokotyle oder dikotyle Pflanzen verwendet werden können und 15 in US 5,608,152 (Napin-Promotor aus Raps), WO 98/45461 (Oleosin-Promotor aus Arobidopsis), US 5,504,200 (Phaseolin-Promotor aus Phaseolus vulgaris), WO 91/13980 (Bce4-Promotor aus Brassica), von Baeumlein et al., Plant J., 2, 2, 1992:233-239 (LeB4-Promotor aus einer Leguminose) beschrieben sind, wobei sich 20 diese Promotoren für Dikotyledonen eignen. Die folgenden Promotoren eignen sich beispielsweise für Monokotyledonen lpt-2oder lpt-1-Promotor aus Gerste (WO 95/15389 und WO 95/23230), Hordein-Promotor aus Gerste und andere, in WO 99/16890 beschriebene geeignete Promotoren.

Es ist im Prinzip möglich, alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen, wie die oben genannten, für das neue Verfahren zu verwenden. Es ist ebenfalls möglich und vorteilhaft, zusätzlich oder alleine synthetische Promotoren zu verwenden, 30 besonders wenn sie eine Samen-spezifische Expression vermitteln, wie z.B. beschrieben in WO 99/16890.

Um einen besonders hohen Gehalt an PUFAs in transgenen Pflanzen
zu erzielen, sollten die PUFA-Biosynthesegene vorteilhaft samenspezifisch in Ölsaaten exprimiert werden. Hierzu können Samenspezifische Promotoren verwendet werden, bzw. solche Promotoren
die im Embryo und/oder im Endosperm aktiv sind. Samen-spezifische
Promotoren können prinzipiell sowohl aus dikotolydonen als auch
aus monokotolydonen Pflanzen isoliert werden. Im folgenden sind
40 vorteilhafte bevorzugte Promotoren aufgeführt: USP (= unknown
seed protein) und Vicilin (Vicia faba) [Bäumlein et al., Mol.
Gen Genet., 1991, 225(3)], Napin (Raps) [US 5,608,152], AcylCarrier Protein (Raps) [US 5,315,001 und WO 92/18634], Oleosin
(Arabidopsis thaliana) [WO 98/45461 und WO 93/20216], Phaseolin
45 (Phaseolus vulgaris) [US 5,504,200], Bce4 [WO 91/13980],
Leguminosen B4 (LegB4-Promotor) [Bäumlein et al., Plant J., 2,2,
1992], Lpt2 und lpt1(Gerste) [WO 95/15389 u. WO95/23230], Samen-

22

spezifische Promotoren aus Reis, Mais u. Weizen [WO 99/16890],
Amy32b, Amy 6-6 und Aleurain [US 5,677,474], Bce4 (Raps)
[US 5,530,149], Glycinin (Soja) [EP 571 741], PhosphoenolPyruvatcarboxylase (Soja) [JP 06/62870], ADR12-2 (Soja)
5 [WO 98/08962], Isocitratlyase (Raps) [US 5,689,040] oder
β-Amylase (Gerste) [EP 781 849].

Die Pflanzengenexpression lässt sich auch über einen chemisch induzierbaren Promotor erleichtern (siehe eine Übersicht in Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48:89-108). Chemisch induzierbare Promotoren eignen sich besonders, wenn gewünscht wird, dass die Genexpression auf zeitspezifische Weise erfolgt. Beispiele für solche Promotoren sind ein Salicylsäureinduzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein Tetracyclin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J. 2, 397-404) und ein Ethanol-induzierbarer Promotor.

Um eine stabile Integration der Biosynthesegene in die transgene Pflanze über mehrere Generation sicherzustellen, sollte 20 jede der im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für die Δ -6-Desaturase, die Δ -5-Desaturase oder die Δ -6-Elongase codieren, unter der Kontrolle eines eigenen bevorzugt eines unterschiedlichen Promotors exprimiert werden, da sich wiederholende Sequenzmotive zu Instabilität der T-DNA bzw. zu Rekombinations-25 ereignissen früheren können. Die Expressionskassette ist dabei vorteilhaft so aufgebaut, dass einem Promotor eine geeignete Schnittstelle zur Insertion der zu expremierenden Nukleinsäure folgt vorteilhaft in einem Polylinker anschließend gegebenenfalls ein Terminator hinter dem Polylinker liegt. Diese Abfolge wieder-30 holt sich mehrfach bevorzugt drei-, vier- oder fünfmal, so dass bis zu fünf Gene in einem Konstrukt zusammengeführt werden und so zur Expression in die transgene Pflanze eingebracht werden können. Vorteilhaft wiederholt sich die Abfolge bis zu dreimal (siehe Sequenzprotokoll SEQ ID NO: 33 bis 37). Die Nukleinsäure-35 sequenzen werden zur Expression über die geeignete Schnittstelle beispielsweise im Polylinker hinter den Promotor inseriert. Vorteilhaft hat jede Nukleinsäuresequenz ihren eigenen Promotor und gegebenenfalls ihren eigenen Terminator. Es ist aber auch möglich mehrere Nukleinsäuresequenzen hinter einem Promotor und ggf. 40 vor einem Terminator zu inserieren. Dabei ist die Insertionsstelle bzw. die Abfolge der inserierten Nukleinsäuren in der Expressionskassette nicht von entscheidender Bedeutung, das heißt eine Nukleinsäuresequenz kann an erster oder letzter Stelle in der Kassette inseriert sein, ohne dass dadurch die Expression 45 wesentlich beeinflusst wird. Es können in der Expressionskassette vorteilhaft unterschiedliche Promotoren wie beispielsweise der

USP-, LegB4 oder DC3-Promotor und unterschiedliche Terminatoren

23

verwendet werden. Es ist aber auch möglich nur einen Promotortyp in der Kassette zu verwenden. Dies kann jedoch zu unerwünschten Rekombinationsereignissen führen.

5 Wie oben beschrieben sollte die Transkription der eingebrachten Gene vorteilhaft durch geeignete Terminatoren am 3'-Ende der eingebrachten Biosynthesegene (hinter dem Stoppcodon) abgebrochen werden. Verwendet werden kann hier z.B. der OCS1 Terminator. Wie auch für die Promotoren, so sollten hier für jedes Gen unterschiedliche Terminatorsequenzen verwendet werden.

Das Genkonstrukt kann, wie oben beschrieben, auch weitere Gene umfassen, die in die Organismen eingebracht werden sollen. Es ist möglich und vorteilhaft, in die Wirtsorganismen Regulationsgene, 15 wie Gene für Induktoren, Repressoren oder Enzyme, welche durch ihre Enzymaktivität in die Regulation eines oder mehrerer Gene eines Biosynthesewegs eingreifen, einzubringen und darin zu exprimieren. Diese Gene können heterologen oder homologen Ursprungs sein. Weiterhin können vorteilhaft im Nukleinsäure-20 konstrukt bzw. Genkonstrukt weitere Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthalten sein oder aber diese Gene können auf einem weiteren oder mehreren weiteren Nukleinsäurekonstrukten liegen. Vorteilhaft werden als Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ein Gen ausgewählt aus 25 der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenasen, Lipoxygenasen, Tri-30 acylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n) oder deren Kombinationen verwendet.

Dabei können die vorgenannten Desaturasen in Kombination mit Elongasen und anderen Desaturasen in erfindungsgemäßen 35 Expressionskassetten kloniert werden und zur Transformation von Pflanzen mithilfe von Agrobakterium eingesetzt werden.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei wie oben beschrieben vorzugsweise die Genexpression der eingeführten 40 Gene positiv beeinflussen und dadurch erhöhen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem 45 beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird. Die Expressionskassetten können prinzipiell direkt zum Einbringen

24

in die Pflanze verwendet werden oder aber in einen Vektoren eingebracht werden.

Diese vorteilhaften Vektoren, vorzugsweise Expressionsvektoren, 5 enthalten die im Verfahren verwendeten Nukleinsäure, die für Δ -5- oder Δ -6-Desaturen oder Δ -6-Elonagasen codieren, oder ein Nukleinsäurekonstrukt, die die verwendeten Nukleinsäure allein oder in Kombination mit weiteren Biosynthesegenen des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels. Wie hier verwendet, betrifft 10 der Begriff "Vektor" ein Nukleinsäuremolekül, das eine andere Nukleinsäure transportieren kann, an welche es gebunden ist. Ein Vektortyp ist ein "Plasmid", was für eine zirkuläre doppelsträngige DNA-Schleife steht, in die zusätzlichen DNA-Segmente ligiert werden können. Ein weiterer Vektortyp ist ein viraler 15 Vektor, wobei zusätzliche DNA-Segmente in das virale Genom ligiert werden können. Bestimmte Vektoren können in einer Wirtszelle, in die sie eingebracht worden sind, autonom replizieren (z.B. Bakterienvektoren mit bakteriellem Replikationsursprung). Andere Vektoren werden vorteilhaft beim Einbringen in die Wirts-20 zelle in das Genom einer Wirtszelle integriert und dadurch zusammen mit dem Wirtsgenom repliziert. Zudem können bestimmte Vektoren die Expression von Genen, mit denen sie funktionsfähig verbunden sind, steuern. Diese Vektoren werden hier als "Expressionsvektoren" bezeichnet. Gewöhnlich haben Expressions-25 vektoren, die für DNA-Rekombinationstechniken geeignet sind, die Form von Plasmiden. In der vorliegenden Beschreibung können "Plasmid" und "Vektor" austauschbar verwendet werden, da das Plasmid die am häufigsten verwendete Vektorform ist. Die Erfindung soll jedoch diese anderen Expressionsvektorformen, 30 wie virale Vektoren, die ähnliche Funktionen ausüben, umfassen. Ferner soll der Begriff Vektor auch andere Vektoren, die dem Fachmann bekannt sind, wie Phagen, Viren, wie SV40, CMV, TMV, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Phagemide, Cosmide, lineare oder zirkuläre DNA, umfassen.

35

Die im Verfahren vorteilhaft verwendeten rekombinanten Expressionsvektoren umfassen die die unten beschriebenen Nukleinsäuren oder das oben beschriebene Genkonstrukt in einer Form, die sich zur Expression der verwendeten Nukleinsäuren in einer Wirtszelle eignen, was bedeutet, dass die rekombinanten Expressionsvektoren eine oder mehrere Regulationssequenzen, ausgewählt auf der Basis der zur Expression zu verwendenden Wirtszellen, die mit der zu exprimierenden Nukleinsäuresequenz funktionsfähig verbunden ist, umfasst. In einem rekombinanten Expressionsvektor bedeutet "funktionsfähig verbunden", dass die Nukleotidsequenz von Interesse derart an die Regulations-

sequenz(en) gebunden ist, dass die Expression der Nukleotid-

sequenz möglich ist und sie aneinander gebunden sind, so dass beide Sequenzen die vorhergesagte, der Sequenz zugeschriebene Funktion erfüllen (z.B. in einem In-vitro-Transkriptions-/Translationssystem oder in einer Wirtszelle, wenn der Vektor in die 5 Wirtszelle eingebracht wird). Der Begriff "Regulationssequenz" soll Promotoren, Enhancer und andere Expressionskontrollelemente (z.B. Polyadenylierungssignale) umfassen. Diese Regulationssequenzen sind z.B. beschrieben in Goeddel: Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, 10 CA (1990), oder siehe: Gruber und Crosby, in: Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnolgy, CRC Press, Boca Raton, Florida, Hrsgb.: Glick und Thompson, Kapitel 7, 89-108, einschließlich der Literaturstellen darin. Regulationssequenzen umfassen solche, welche die konstitutive Expression einer 15 Nukleotidsequenz in vielen Wirtszelltypen steuern, und solche, welche die direkte Expression der Nukleotidsequenz nur in bestimmten Wirtszellen unter bestimmten Bedingungen steuern. Der Fachmann weiß, dass die Gestaltung des Expressionsvektors von Faktoren, wie der Auswahl der zu transformierenden Wirts-20 zelle, dem Ausmaß der Expression des gewünschten Proteins usw., abhängen kann.

Die verwendeten rekombinanten Expressionsvektoren können zur Expression von Desaturasen und Elongasen in prokaryotischen oder 25 eukaryotischen Zellen gestaltet sein. Dies ist vorteilhaft, da häufig Zwischenschritte der Vektorkonstruktion der Einfachheithalber in Mikroorganismen durchgeführt werden. Beispielsweise können Desaturase- und/oder Elongase-Gene in bakteriellen Zellen, Insektenzellen (unter Verwendung von Baculovirus-Expressions-30 vektoren), Hefe- und anderen Pilzzellen (siehe Romanos, M.A., et al. (1992) "Foreign gene expression in yeast: a review", Yeast 8:423-488; van den Hondel, C.A.M.J.J., et al. (1991) "Heterologous gene expression in filamentous fungi", in: More Gene Manipulations in Fungi, J.W. Bennet & L.L. Lasure, Hrsgb., 35 S. 396-428: Academic Press: San Diego; und van den Hondel, C.A.M.J.J., & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi, in: Applied Molecular Genetics of Fungi, Peberdy, J.F., et al., Hrsgb., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge), Algen (Falciatore et al., 1999, 40 Marine Biotechnology.1, 3:239-251), Ciliaten der Typen: Holotrichia, Peritrichia, Spirotrichia, Suctoria, Tetrahymena, Paramecium, Colpidium, Glaucoma, Platyophrya, Potomacus, Desaturaseudocohnilembus, Euplotes, Engelmaniella und Stylonychia, insbesondere der Gattung Stylonychia lemnae, mit Vektoren nach einem 45 Transformationsverfahren, wie beschrieben in WO 98/01572, sowie bevorzugt in Zellen vielzelliger Pflanzen (siehe Schmidt, R. und

Willmitzer, L. (1988) "High efficiency Agrobacterium tumefaciens-

und translatiert werden.

mediated transformation of Arabidopsis thaliana leaf and cotyledon explants" Plant Cell Rep.:583-586; Plant Molecular Biology and Biotechnology, C Press, Boca Raton, Florida, Kapitel 6/7, S.71-119 (1993); F.F. White, B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-43; Potrykus, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991), 205-225 (und darin zitierte Literaturstellen)) exprimiert werden. Geeignete Wirtszellen werden ferner erörtert in Goeddel, 10 Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990). Der rekombinante Expressionsvektor kann alternativ, zum Beispiel unter Verwendung von T7-Promotor-Regulationssequenzen und T7-Polymerase, in vitro transkribiert

15

Die Expression von Proteinen in Prokaryoten erfolgt meist mit Vektoren, die konstitutive oder induzierbare Promotoren enthalten, welche die Expression von Fusions- oder nicht-Fusionsproteinen steuern. Typische Fusions-Expressionsvektoren sind u.a. pGEX (Pharmacia Biotech Inc; Smith, D.B., und Johnson, K.S. (1988) Gene 67:31-40), pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA) und pRIT5 (Pharmacia, Piscataway, NJ), bei denen Glutathion-S-Transferase (GST), Maltose E-bindendes Protein bzw. Protein A an das rekombinante Zielprotein fusioniert wird.

25

Beispiele für geeignete induzierbare nicht-Fusions-E. coli-Expressionsvektoren sind u.a. pTrc (Amann et al. (1988) Gene 69:301-315) und pET 11d (Studier et al., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, 30 Kalifornien (1990) 60-89). Die Zielgenexpression vom pTrc-Vektor beruht auf der Transkription durch Wirts-RNA-Polymerase von einem Hybrid-trp-lac-Fusionspromotor. Die Zielgenexpression aus dem pET 11d-Vektor beruht auf der Transkription von einem T7-gn10-lac-Fusions-Promotor, die von einer coexprimierten viralen RNA-Poly-35 merase (T7 gn1) vermittelt wird. Diese virale Polymerase wird von den Wirtsstämmen BL21 (DE3) oder HMS174 (DE3) von einem residenten λ-Prophagen bereitgestellt, der ein T7 gn1-Gen unter der Transkriptionskontrolle des lacUV 5-Promotors birgt.

- 40 Andere in prokaryotischen Organismen geeignete Vektoren sind dem Fachmann bekannt, diese Vektoren sind beispielsweise in E. coli pLG338, pACYC184, die pBR-Reihe, wie pBR322, die pUC-Reihe, wie pUC18 oder pUC19, die M113mp-Reihe, pKC30, pRep4, pHS1, pHS2, pPLc236, pMBL24, pLG200, pUR290, pIN-III¹¹³-B1, \(\lambda\)gt11 or pBdCI,
- 45 in Streptomyces pIJ101, pIJ364, pIJ702 oder pIJ361, in Bacillus pUB110, pC194 oder pBD214, in Corynebacterium pSA77 oder pAJ667.

PCT/EP03/04297

Bei einer weiteren Ausführungsform ist der Expressionsvektor ein Hefe-Expressionsvektor. Beispiele für Vektoren zur Expression in der Hefe S. cerevisiae umfassen pyeDesaturasecl (Baldari et al. (1987) Embo J. 6:229-234), pMFa (Kurjan und Herskowitz (1982)

- 5 Cell 30:933-943), pJRY88 (Schultz et al. (1987) Gene 54:113-123) sowie pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, CA). Vektoren und Verfahren zur Konstruktion von Vektoren, die sich zur Verwendung in anderen Pilzen, wie den filamentösen Pilzen, eignen, umfassen diejenigen, die eingehend beschrieben sind in: van den Hondel,
- 10 C.A.M.J.J., & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi, in: Applied Molecular Genetics of fungi, J.F. Peberdy et al., Hrsgb., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge, oder in: More Gene Manipulations in Fungi [J.W. Bennet & L.L. Lasure, Hrsgb., S. 396-428: Academic
- 15 Press: San Diego]. Weitere geeignete Hefevektoren sind beispielsweise pAG-1, YEp6, YEp13 oder pEMBLYe23.

Alternativ können die Desaturasen und/oder Elongasen in Insektenzellen unter Verwendung von Baculovirus-Expressionsvektoren 20 exprimiert werden. Baculovirus-Vektoren, die zur Expression von Proteinen in gezüchteten Insektenzellen (z.B. Sf9-Zellen) verfügbar sind, umfassen die pAc-Reihe (Smith et al. (1983) Mol. Cell Biol.. 3:2156-2165) und die pVL-Reihe (Lucklow und Summers (1989) Virology 170:31-39).

Die oben genannten Vektoren bieten nur einen kleinen Überblick über mögliche geeignete Vektoren. Weitere Plasmide sind dem Fachmann bekannt und sind zum Beispiel beschrieben in: Cloning Vectors (Hrsgb. Pouwels, P.H., et al., Elsevier, Amsterdam-30 New York-Oxford, 1985, ISBN 0 444 904018). Weitere geeignete Expressionssysteme für prokaryotische und eukaryotische Zellen siehe in den Kapiteln 16 und 17 von Sambrook, J., Fritsch, E.F., und Maniatis, T., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor

35 Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989.

Bei einer weiteren Ausführungsform können des Verfahrens können die Desaturasen und/oder Elongasen in einzelligen Pflanzenzellen (wie Algen), siehe Falciatore et al., 1999, Marine Biotechnology

- 40 1 (3):239-251 und darin zitierte Literaturangaben, und Pflanzenzellen aus höheren Pflanzen (z.B. Spermatophyten, wie Feldfrüchten) exprimiert werden. Beispiele für Pflanzen-Expressionsvektoren umfassen solche, die eingehend beschrieben sind in: Becker, D., Kemper, E., Schell, J., und Masterson, R. (1992)
- 45 "New plant binary vectors with selectable markers located proximal to the left border", Plant Mol. Biol. 20:1195-1197; und Bevan, M.W. (1984) "Binary Agrobacterium vectors for plant

transformation", Nucl. Acids Res. 12:8711-8721; Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15-38.

28

Eine Pflanzen-Expressionskassette enthält vorzugsweise
Regulationssequenzen, welche die Genexpression in Pflanzenzellen steuern können und funktionsfähig verbunden sind, so dass
jede Sequenz ihre Funktion, wie Termination der Transkription,

10 erfüllen kann, beispielsweise Polyadenylierungssignale. Bevorzugte Polyadenylierungssignale sind diejenigen, die aus Agrobacterium tumefaciens-t-DNA stammen, wie das als Octopinsynthase
bekannte Gen 3 des Ti-Plasmids pTiACH5 (Gielen et al., EMBO
J. 3 (1984) 835ff.) oder funktionelle Äquivalente davon, aber

15 auch alle anderen in Pflanzen funktionell aktiven Terminatoren
sind geeignet.

Da die Pflanzengenexpression sehr oft nicht auf Transkriptionsebenen beschränkt ist, enthält eine Pflanzen-Expressionskassette 20 vorzugsweise andere funktionsfähig verbunden Sequenzen, wie Translationsenhancer, beispielsweise die Overdrive-Sequenz, welche die 5'-untranslatierte Leader-Sequenz aus Tabakmosaikvirus, die das Protein/RNA-Verhältnis erhöht, enthält (Gallie et al., 1987, Nucl. Acids Research 15:8693-8711).

25

35

Die Pflanzengenexpression muss wie oben beschrieben funktionsfähig mit einem geeigneten Promotor verbunden sein, der die Genexpression auf rechtzeitige, zell- oder gewebespezifische Weise durchführt. Nutzbare Promotoren sind konstitutive 30 Promotoren (Benfey et al., EMBO J. 8 (1989) 2195-2202), wie diejenigen, die von Pflanzenviren stammen, wie 35S CAMV (Franck et al., Cell 21 (1980) 285-294), 19S CaMV (siehe auch US 5352605 und WO 84/02913) oder Pflanzenpromotoren, wie der in US 4,962,028 beschriebene der kleinen Untereinheit der Rubisco.

Andere bevorzugte Sequenzen für die Verwendung zur funktionsfähigen Verbindung in Pflanzengenexpressions-Kassetten sind
Targeting-Sequenzen, die zur Steuerung des Genproduktes in sein
entsprechendes Zellkompartiment notwendig sind (siehe eine Über40 sicht in Kermode, Crit. Rev. Plant Sci. 15, 4 (1996) 285-423
und darin zitierte Literaturstellen), beispielsweise in die
Vakuole, den Zellkern, alle Arten von Plastiden, wie Amyloplasten, Chloroplasten, Chromoplasten, den extrazellulären Raum,
die Mitochondrien, das Endoplasmatische Retikulum, Ölkörper,
45 Peroxisomen und andere Kompartimente von Pflanzenzellen.

Die Pflanzengenexpression lässt sich auch wie oben beschrieben über einen chemisch induzierbaren Promotor erleichtern (siehe eine Übersicht in Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48:89-108). Chemisch induzierbare Promotoren eignen sich 5 besonders, wenn gewünscht wird, dass die Genexpression auf zeit-

besonders, wenn gewünscht wird, dass die Genexpression auf zeitspezifische Weise erfolgt. Beispiele für solche Promotoren sind
ein Salicylsäure-induzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein Tetracyclin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J. 2,
397-404) und ein Ethanol-induzierbarer Promotor.

10

Auch Promotoren, die auf biotische oder abiotische Stressbedingungen reagieren, sind geeignete Promotoren, beispielsweise der pathogeninduzierte PRP1-Gen-Promotor (Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993) 361-366), der hitzeinduzierbare hsp80-

15 Promotor aus Tomate (US 5,187,267), der kälteinduzierbare Alphaamylase-Promotor aus Kartoffel (WO 96/12814) oder der durch Wunden induzierbare pinII-Promotor (EP-A-0 375 091).

Es sind insbesondere solche Promotoren bevorzugt, welche die 20 Genexpression in Geweben und Organen herbeiführen, in denen die Lipid- und Ölbiosynthese stattfindet, in Samenzellen, wie den Zellen des Endosperms und des sich entwickelnden Embryos. Geeignete Promotoren sind der Napingen-Promotor aus Raps (US 5,608,152), der USP-Promotor aus Vicia faba (Baeumlein

- 25 et al., Mol Gen Genet, 1991, 225 (3):459-67), der Oleosin-Promotor aus Arabidopsis (WO 98/45461), der Phaseolin-Promotor aus Phaseolus vulgaris (US 5,504,200), der Bce4-Promotor aus Brassica (WO 91/13980) oder der Legumin-B4-Promotor (LeB4; Baeumlein et al., 1992, Plant Journal, 2 (2):233-9) sowie
- 30 Promotoren, welche die samenspezifische Expression in Monokotyledonen-Pflanzen, wie Mais, Gerste, Weizen, Roggen, Reis usw. herbeiführen. Geeignete beachtenswerte Promotoren sind der lpt2oder lpt1-Gen-Promotor aus Gerste (WO 95/15389 und WO 95/23230) oder die in WO 99/16890 beschriebenen (Promotoren aus dem
- 35 Gersten-Hordein-Gen, dem Reis-Glutelin-Gen, dem Reis-Oryzin-Gen, dem Reis-Prolamin-Gen, dem Weizen-Gliadin-Gen, Weizen-Glutelin-Gen, dem Mais-Zein-Gen, dem Hafer-Glutelin-Gen, dem Sorghum-Kasirin-Gen, dem Roggen-Secalin-Gen).
- 40 Insbesondere kann die multiparallele Expression der im Verfahren verwendeten Desaturasen und/Elongasen allein oder in Kombination mit anderen Desaturasen oder Elongasen gewünscht sein. Die Einführung solcher Expressionskassetten kann über eine simultane Transformation mehrerer einzelner Expressionskonstrukte erfolgen
- 45 oder bevorzugt durch Kombination mehrerer Expressionskassetten auf einem Konstrukt. Auch können mehrere Vektoren mit mit jeweils

30

mehreren Expressionskassetten transformiert und auf die Wirtszelle übertragen werden.

Ebenfalls besonders geeignet sind Promotoren, welche die 5 plastidenspezifische Expression herbeiführen, da Plastiden das Kompartiment sind, in dem die Vorläufer sowie einige Endprodukte der Lipidbiosynthese synthetisiert werden. Geeignete Promotoren, wie der virale RNA-Polymerase-Promotor, sind beschrieben in WO 95/16783 und WO 97/06250, und der clpP-10 Promotor aus Arabidopsis, beschrieben in WO 99/46394.

Vektor-DNA lässt sich in prokaryotische oder eukaryotische Zellen über herkömmliche Transformations- oder Transfektionstechniken einbringen. Die Begriffe "Transformation" und "Transfektion",

- 15 Konjugation und Transduktion, wie hier verwendet, sollen eine Vielzahl von im Stand der Technik bekannten Verfahren zum Einbringen fremder Nukleinsäure (z.B. DNA) in eine Wirtszelle, einschließlich Calciumphosphat- oder Calciumchlorid-Copräzipitation, DEAE-Dextran-vermittelte Transfektion, Lipofektion,
- 20 natürliche Kompetenz, chemisch vermittelter Transfer, Elektroporation oder Teilchenbeschuss, umfassen. Geeignete Verfahren zur Transformation oder Transfektion von Wirtszellen, einschließlich Pflanzenzellen, lassen sich finden in Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual., 2. Aufl., Cold Spring
- 25 Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) und anderen Labor-Handbüchern, wie Methods in Molecular Biology, 1995, Bd. 44, Agrobacterium protocols, Hrsgb: Gartland und Davey, Humana Press, Totowa, New Jersey.

30

- Wirtszellen, die im Prinzip zum Aufnehmen der erfindungsgemäßen Nukleinsäure, des erfindungsgemäßen Genproduktes oder des erfindungsgemäßen Vektors geeignet sind, sind alle prokaryotischen oder eukaryotischen Organismen. Die vorteilhafterweise ver-
- 35 wendeten Wirtsorganismen sind Organismen, wie Bakterien, Pilze, Hefen oder Pflanzenzellen vorzugsweise Pflanzen oder Teile davon. Pilze, Hefen oder Pflanzen werden vorzugsweise verwendet, besonders bevorzugt Pflanzen, ganz besonders bevorzugt Pflanzen, wie Ölfruchtpflanzen, die große Mengen an Lipidverbindungen
- 40 enthalten, wie Raps, Nachtkerze, Hanf, Diestel, Erdnuss, Canola, Lein, Soja, Safflor, Sonnenblume, Borretsch, oder Pflanzen, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Baumwolle, Maniok, Pfeffer, Tagetes, Solanaceen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Alfalfa, Busch-
- **45** pflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten, Bäume (Ölplame, Kokosnuss) sowie ausdauernde Gräser und Futterfeldfrüchte.

 Besonders bevorzugte erfindungsgemäße Pflanzen sind Ölfrucht-

31

pflanzen, wie Soja, Erdnuß, Raps, Canola, Lein, Hanf, Nachtkerze, Sonnenblume, Safflor, Bäume (Ölpalme, Kokosnuß).

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden vorteilhaft Nuklein- 5 säuresequenzen verwendet, die für die Polypeptide mit einer Δ -6-Desaturaseaktivität, Δ -6-Elongaseaktivität oder Δ -5-Desaturaseaktivität codierenden, ausgewählt aus der Gruppe:

a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 1,

SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9,

SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17,

SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25,

SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29 oder SEQ ID NO: 31 dargestellten Sequenz,

15

- b) Nukleinsäuresequenzen, die aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30 oder SEQ ID NO: 32 dargestellten Aminosäuresequenzen erhalten werden,
- Derivate der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, 25 SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29 oder SEQ ID NO: 31 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit der in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, 30 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30 oder SEQ ID NO: 32 dargestellten Aminosäuresequenzen codieren und mindestens 50 % Homologie auf Aminosäureebene aufweisen, ohne daß die enzymatische Wirkung der 35 Polypeptide wesentlich reduziert ist.

Die oben genannte erfindungsgemäße Nukleinsäure stammt von Organismen, wie Tieren, Ciliaten, Pilzen, Pflanzen wie Algen 40 oder Dinoflagellaten, die PUFAs synthetisieren können.

Der Begriff "Nukleinsäure(molekül)", wie hier verwendet, umfasst zudem die am 3'- und am 5'-Ende des kodierenden Genbereichs gelegene untranslatierte Sequenz: mindestens 500, bevorzugt 200,

45 besonders bevorzugt 100 Nukleotide der Sequenz stromaufwärts des 5'-Endes des kodierenden Bereichs und mindestens 100, bevorzugt 50, besonders bevorzugt 20 Nukleotide der Sequenz stromabwärts

des 3'-Endes des kodierenden Genbereichs. Ein "isoliertes"
Nukleinsäuremolekül wird von anderen Nukleinsäuremolekülen abgetrennt, die in der natürlichen Quelle der Nukleinsäure vorliegen.
Eine "isolierte" Nukleinsäure hat vorzugsweise keine Sequenzen,
welche die Nukleinsäure in der genomischen DNA des Organismus,
aus dem die Nukleinsäure stammt, natürlicherweise flankieren
(z.B. Sequenzen, die sich an den 5'- und 3'-Enden der Nukleinsäure befinden). Bei verschiedenen Ausführungsformen kann das
isolierte Desaturase- oder Elongase-Nukleinsäuremolekül zum Beispiel weniger als etwa 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb oder
0,1 kb an Nukleotidsequenzen enthalten, die natürlicherweise das
Nukleinsäuremolekül in der genomischen DNA der Zelle, aus der die
Nukleinsäure stammt flankieren.

- 15 Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuremoleküle, z.B. ein Nukleinsäuremolekül mit einer Nukleotidsequenz der SEQ ID NO:1 oder eines Teils davon, kann unter Verwendung molekularbiologischer Standardtechniken und der hier bereitgestellten Sequenzinformation isoliert werden. Auch kann mithilfe von Ver-
- 20 gleichsalgorithmen beispielsweise eine homologe Sequenz oder homologe, konservierte Sequenzbereiche auf DNA oder Aminosäure- ebene identifiziert werden. Diese können als Hybridisierungssonde sowie Standard-Hybridisierungstechniken (wie z.B. beschrieben in Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual.
- 25 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) zur Isolierung weiterer im Verfahren nützlicher Nukleinsäuresequenzen verwendet werden. Überdies lässt sich ein Nukleinsäuremolekül, umfassend eine vollständige Sequenz der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13,
- 30 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 oder einen Teil davon, durch Polymerasekettenreaktion isolieren, wobei Oligonukleotid-primer, die auf der Basis dieser Sequenz oder von Teilen davon, verwendet werden (z.B. kann ein Nukleinsäuremolekül, umfassend die vollständigen Sequenz oder einen Teil davon, durch Poly-
- 35 merasekettenreaktion unter Verwendung von Oligonukleotidprimern isoliert werden, die auf der Basis dieser gleichen Sequenz erstellt worden sind). Zum Beispiel lässt sich mRNA aus Zellen isolieren (z.B. durch das Guanidiniumthiocyanat-Extraktionsverfahren von Chirgwin et al. (1979) Biochemistry 18:5294-5299)
- 40 und cDNA mittels Reverser Transkriptase (z.B. Moloney-MLV-Reverse-Transkriptase, erhältlich von Gibco/BRL, Bethesda, MD, oder AMV-Reverse-Transkriptase, erhältlich von Seikagaku America, Inc., St.Petersburg, FL) herstellen. Synthetische Oligonukleotidprimer zur Amplifizierung mittels Polymerasekettenreaktion lassen
- 45 sich auf der Basis einer der in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 sowie der in Figur 5a gezeigten Sequenzen oder mithilfe der in SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8,

33

10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 dargestellten Aminosäuresequenzen erstellen. Eine erfindungsgemäße Nukleinsäure kann unter Verwendung von cDNA oder alternativ von genomischer DNA als Matrize und geeigneten Oligonukleotidprimern gemäß

- 5 Standard-PCR-Amplifikationstechniken amplifiziert werden. Die so amplifizierte Nukleinsäure kann in einen geeigneten Vektor kloniert werden und mittels DNA-Sequenzanalyse charakterisiert werden. Oligonukleotide, die einer Desaturase-Nukleotidsequenz entsprechen, können durch Standard-Syntheseverfahren, beispiels-
- 10 weise mit einem automatischen DNA-Synthesegerät, hergestellt werden.

Homologe der verwendeten Desaturase- oder Elongase-Nukleinsäuresequenzen mit der Sequenz SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13,

- 15 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 bedeutet beispielsweise allelische Varianten mit mindestens etwa 50 bis 60 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 bis 70 %, stärker bevorzugt mindestens etwa 70 bis 80 %, 80 bis 90 % oder 90 bis 95 % und noch stärker bevorzugt mindestens etwa 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder
- 20 mehr Homologie zu einer in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 gezeigten Nukleotidsequenzen oder ihren Homologen, Derivaten oder Analoga oder Teilen davon. Weiterhin sind isolierte Nukleinsäuremoleküle einer Nukleotidsequenz, die an eine der in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15,
- 25 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 gezeigten Nukleotidsequenzen oder einen Teil davon hybridisieren, z.B. unter stringenten Bedingungen hybridisiert. Allelische Varianten umfassen insbesondere funktionelle Varianten, die sich durch Deletion, Insertion oder Substitution von Nukleotiden aus/in der in
- 30 SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 dargestellten Sequenz erhalten lassen, wobei aber die Absicht ist, dass die Enzymaktivität der davon herrührenden synthetisierten Proteine für die Insertion eines oder mehrerer Gene vorteilhafterweise beibehalten wird. Proteine, die noch die
- as heißt deren Aktivität der Desaturase oder Elongase besitzen, das heißt deren Aktivität im wesentlichen nicht reduziert ist, bedeutet Proteine mit mindestens 10 %, vorzugsweise 20 %, besonders bevorzugt 30 %, ganz besonders bevorzugt 40 % der ursprünglichen Enzymaktivität, verglichen mit dem durch
- 40 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 kodierten Protein.

Homologen der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 bedeuten beispielsweise auch bakterielle, 45 Pilz- und Pflanzenhomologen, verkürzte Sequenzen, einzelsträngige

DNA oder RNA der kodierenden und nicht-kodierenden DNA-Sequenz.

34

Homologen der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 bedeutet auch Derivate, wie beispielsweise Promotorvarianten. Die Promotoren stromaufwärts der angegebenen Nukleotidsequenzen können durch einen oder mehrere Nukleotidaustausche, durch Insertion(en) und/oder Deletion(en) modifiziert werden, ohne dass jedoch die Funktionalität oder Aktivität der Promotoren gestört wird. Es ist weiterhin möglich, dass die Aktivität der Promotoren durch Modifikation ihrer Sequenz erhöht ist oder dass sie vollständig durch aktivere Promotoren, sogar aus heterologen Organismen, ersetzt werden.

Die vorgenannten Nukleinsäuren und Proteinmoleküle mit Desaturase- oder Elongaseaktivität, die am Stoffwechsel von Lipiden und Fettsäuren, PUFA-Cofaktoren und Enzymen oder am Transport 15 lipophiler Verbindungen über Membranen beteiligt sind, werden im erfindungsgemäßen Verfahren zur Modulation der Produktion von Verbindungen der allgemeinen Formel I in transgenen Pflanzen, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Sojabohne, Erdnuss, Baumwolle, Linum Arten wie Öl- oder Faserlein, 20 Brassica-Arten, wie Raps, Canola und Rübsen, Pfeffer, Sonnenblume, Borretsch, Nachtkerze und Tagetes, Solanacaen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Maniok, Alfalfa, Buschpflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss) und ausdauernden Gräsern und Futter-25 feldfrüchten, entweder direkt (z.B. wenn die Überexpression oder Optimierung eines Fettsäurebiosynthese-Proteins einen direkten Einfluss auf die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion der Fettsäure aus modifizierten Organismen hat) verwenden und/oder können eine indirekt Auswirkung haben, die 30 dennoch zu einer Steigerung der Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion einer gewünschten Verbindung oder einer Abnahme unerwünschter Verbindungen führt (z.B. wenn die Modulation des Stoffwechsels von Lipiden und Fettsäuren, Cofaktoren und Enzymen zu Veränderungen der Ausbeute, Produktion 35 und/oder Effizienz der Produktion oder der Zusammensetzung der gewünschten Verbindungen innerhalb der Zellen führt, was wiederum die Produktion einer oder mehrerer Fettsäuren beeinflussen kann).

Die Kombination verschiedener Vorläufermoleküle und Biosynthese40 enzyme führt zur Herstellung verschiedener Fettsäuremoleküle, was eine entscheidende Auswirkung auf die Zusammensetzung der Lipide hat. Da mehrfach ungesättigte Fettsäuren (= PUFAs) nicht nur einfach in Triacylglycerin sondern auch in Membranlipide eingebaut werden.

Die Lipidsynthese lässt sich in zwei Abschnitté unterteilen: die Synthese von Fettsäuren und ihre Bindung an sn-Glycerin-3-Phosphat sowie die Addition oder Modifikation einer polaren Kopfgruppe. Übliche Lipide, die in Membranen verwendet werden, 5 umfassen Phospholipide, Glycolipide, Sphingolipide und Phosphoglyceride. Die Fettsäuresynthese beginnt mit der Umwandlung von Acetyl-CoA in Malonyl-CoA durch die Acetyl-CoA-Carboxylase oder in Acetyl-ACP durch die Acetyltransacylase. Nach einer Kondensationsreaktion bilden diese beiden Produktmoleküle 10 zusammen Acetoacetyl-ACP, das über eine Reihe von Kondensations-, Reduktions- und Dehydratisierungsreaktionen umgewandelt wird, so dass ein gesättigtes Fettsäuremolekül mit der gewünschten Kettenlänge erhalten wird. Die Produktion der ungesättigten Fettsäuren aus diesen Molekülen wird durch spezifische Desaturasen kata-15 lysiert, und zwar entweder aerob mittels molekularem Sauerstoff oder anaerob (bezüglich der Fettsäuresynthese in Mikroorganismen siehe F.C. Neidhardt et al. (1996) E. coli und Salmonella. ASM Press: Washington, D.C., S. 612-636 und darin enthaltene Literaturstellen; Lengeler et al. (Hrsgb.) (1999) Biology of 20 Procaryotes. Thieme: Stuttgart, New York, und die enthaltene Literaturstellen, sowie Magnuson, K., et al. (1993) Microbiological Reviews 57:522-542 und die enthaltenen Literaturstellen).

25 Vorläufer für die PUFA-Biosynthese sind beispielsweise Ölsäure, Linol- und Linolensäure. Diese C₁₈-Kohlenstoff-Fettsäuren müssen auf C_{20} und C_{22} verlängert werden, damit Fettsäuren vom Eicosaund Docosa-Kettentyp erhalten werden. Mithilfe der im Verfahren verwendeten Desaturasen wie der Δ -5- und Δ -6-Desaturase und der 30 Δ -6-Elongase können Arachidonsäure und Eicosapentaensäure sowie verschiedene andere langkettige PUFAs erhalten, extrahiert und für verschiedene Zwecke bei Nahrungsmittel-, Futter-, Kosmetikoder pharmazeutischen Anwendungen verwendet werden. Mit den genannten Enzymen können vorzugsweise C18 + C20 Fettsäuren mit 35 mindestens zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise zu C20-Fettsäuren mit vorteilhaft drei, vier oder fünf Doppelbindungen im Fettsäuremolekül hergestellt werden. Die Desaturierung kann vor oder nach Elongation der entsprechenden Fettsäure erfolgen. Daher führen die Produkte der 40 Desaturaseaktivitäten und der möglichen weiteren Desaturierung und Elongation zu bevorzugten PUFAs mit höherem Desaturierungsgrad, einschließlich einer weiteren Elongation von C20 zu $C_{22} ext{-Fetts\"{a}uren,zu}$ Fetts\"{a}uren wie $\gamma ext{-Linolens\"{a}ure, Dihomo-}\gamma ext{-linolen-}$ säure, Arachidonsäure, Stearidonsäure, Eicosatetraensäure oder 45 Eicosapentaensäure. Substrate im erfindungsgemäßen Verfahren sind zum Beispiel Linolsäure, γ -Linolensäure, α -Linolensäure, Dihomo-

 γ -linolensäure, Eicosatetraensäure oder Stearidonsäure. Bevorzugte

36

Substrate sind Linolsäure, γ -Linolensäure und/oder α -Linolensäure, dihomo- γ -linolensäure bzw. Arachidonsäure, Eicosatetraensäure oder Eicosapentaensäure. Die C_{18} -oder C_{20} -Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen in der Fettsäure fallen im erfindungsgemäßen Verfahren in Form der freien Fettsäure oder in Form ihrer Ester (siehe Formel I) beispielsweise in Form ihrer Glyceride an.

Unter dem Begriff "Glycerid" wird ein mit ein, zwei oder drei

10 Carbonsäureresten verestertes Glycerin verstanden (Mono-,
Di- oder Triglycerid). Unter "Glycerid" wird auch ein Gemisch
an verschiedenen Glyceriden verstanden. Das Glycerid oder das
Gylceridgemisch kann weitere Zusätze, z.B. freie Fettsäuren,
Antioxidantien, Proteine, Kohlenhydrate, Vitamine und/oder

15 andere Substanzen enthalten.

Unter einem "Glycerid" im Sinne des erfindungsgemäßen Verfahrens werden ferner vom Glycerin abgeleitete Derivate verstanden. Dazu zählen neben den oben beschriebenen Fettsäureglyceriden auch 20 Glycerophospholipide und Glyceroglycolipide. Bevorzugt seien hier die Glycerophospholipide wie Lecithin (Phosphatidylcholin), Cardiolipin, Phosphatidylglycerin, Phosphatidylserin und Alkylacylglycerophospholipide beispielhaft genannt.

25 Ferner müssen Fettsäuren anschließend an verschiedene Modifikationsorte transportiert und in das Triacylglycerin-Speicherlipid eingebaut werden. Ein weiterer wichtiger Schritt bei der Lipidsynthese ist der Transfer von Fettsäuren auf die polaren Kopfgruppen, beispielsweise durch Glycerin-Fettsäure-Acyltransferase (siehe Frentzen, 1998, Lipid, 100(4-5):161-166).

Veröffentlichungen über die Pflanzen-Fettsäurebiosynthese,
Desaturierung, den Lipidstoffwechsel und Membrantransport
von fetthaltigen Verbindungen, die Betaoxidation, Fettsäure35 modifikation und Cofaktoren, Triacylglycerin-Speicherung und
-Assemblierung einschließlich der Literaturstellen darin siehe
in den folgenden Artikeln: Kinney, 1997, Genetic Engeneering,
Hrsgb.: JK Setlow, 19:149-166; Ohlrogge und Browse, 1995, Plant
Cell 7:957-970; Shanklin und Cahoon, 1998, Annu. Rev. Plant
40 Physiol. Plant Mol. Biol. 49:611-641; Voelker, 1996, Genetic
Engeneering, Hrsgb.: JK Setlow, 18:111-13; Gerhardt, 1992, Prog.
Lipid R. 31:397-417; Gühnemann-Schäfer & Kindl, 1995, Biochim.
Biophys Acta 1256:181-186; Kunau et al., 1995, Prog. Lipid Res.
34:267-342; Stymne et al., 1993, in: Biochemistry and Molecular
Biology of Membrane and Storage Lipids of Plants, Hrsgb.:
Murata und Somerville, Rockville, American Society of Plant

37

Physiologists, 150-158, Murphy & Ross 1998, Plant Journal. 13(1):1-16.

Die im Verfahren hergestellten PUFAs, umfassen eine Gruppe von 5 Molekülen, die höhere Tiere nicht mehr synthetisieren können und somit aufnehmen müssen oder die höhere Tiere nicht mehr ausreichend selbst herstellen können und somit zusätzlich aufnehmen müssen, obwohl sie leicht von anderen Organismen, wie Bakterien, synthetisiert werden, beispielsweise können Katzen Arachidonsäure 10 nicht mehr synthetisieren.

Der Begriff "Desaturase oder Elongase" oder "Desaturase- oder Elongase-Polypeptid" im Sinne der Erfindung umfasst Proteine, die an der Desaturierung und Elongierung von Fettsäuren teilnehmen, 15 sowie ihre Homologen, Derivaten oder Analoga. Die Begriffe Desaturase oder Elongase-Nukleinsäuresequenz(en) umfassen Nukleinsäuresequenzen, die eine Desaturase oder Elongase kodieren und bei denen ein Teil eine kodierende Region und ebenfalls entsprechende 5'- und 3'-untranslatierte Sequenzbereiche sein 20 können. Die Begriffe Produktion oder Produktivität sind im Fachgebiet bekannt und beinhalten die Konzentration des Fermentationsproduktes (Verbindungen der Formel I), das in einer bestimmten Zeitspanne und einem bestimmten Fermentationsvolumen gebildet wird (z.B. kg Produkt pro Stunde pro Liter). Der Begriff 25 Effizienz der Produktion umfasst die Zeit, die zur Erzielung einer bestimmten Produktionsmenge nötig ist (z.B. wie lange die Zelle zur Aufrichtung einer bestimmten Durchsatzrate einer Feinchemikalie benötigt). Der Begriff Ausbeute oder Produkt/ Kohlenstoff-Ausbeute ist im Fachgebiet bekannt und umfasst die 30 Effizienz der Umwandlung der Kohlenstoffquelle in das Produkt (d.h. die Feinchemikalie). Dies wird gewöhnlich beispielsweise ausgedrückt als kg Produkt pro kg Kohlenstoffquelle. Durch Erhöhen der Ausbeute oder Produktion der Verbindung wird die Menge der gewonnenen Moleküle oder der geeigneten gewonnenen Moleküle 35 dieser Verbindung in einer bestimmten Kulturmenge über einen festgelegten Zeitraum erhöht. Die Begriffe Biosynthese oder Biosyntheseweg sind im Fachgebiet bekannt und umfassen die Synthese einer Verbindung, vorzugsweise einer organischen Verbindung, durch eine Zelle aus Zwischenverbindungen, beispielsweise in 40 einem Mehrschritt- und stark regulierten Prozess. Die Begriffe Abbau oder Abbauweg sind im Fachgebiet bekannt und umfassen die Spaltung einer Verbindung, vorzugsweise einer organischen Verbindung, durch eine Zelle in Abbauprodukte (allgemeiner gesagt, kleinere oder weniger komplexe Moleküle) beispielsweise in einem 45 Mehrschritt- und stark regulierten Prozess. Der Begriff Stoffwechsel ist im Fachgebiet bekannt und umfasst die Gesamtheit der biochemischen Reaktionen, die in einem Organismus stattfinden.

38

Der Stoffwechsel einer bestimmten Verbindung (z.B. der Stoffwechsel einer Fettsäure) umfasst dann die Gesamtheit der Biosynthese-, Modifikations- und Abbauwege dieser Verbindung in der Zelle, die diese Verbindung betreffen.

Bei einer weiteren Ausführungsform kodieren Derivate des erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküls Proteine mit mindestens 50 %, vorteilhaft etwa 50 bis 60 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 bis 70 % und stärker bevorzugt mindestens etwa 70 bis 80 %,

- 10 80 bis 90 %, 90 bis 95 % und am stärksten bevorzugt mindestens etwa 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder mehr Homologie (= Identität) zu einer vollständigen Aminosäuresequenz der SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32. Die Homologie der Aminosäuresequenz kann über den gesamten Sequenzbereich mit
- 15 dem Programm PileUp (J. Mol. Evolution., 25, 351-360, 1987, Higgins et al., CABIOS, 5, 1989:151-153) oder BESTFIT oder GAP bestimmt (Henikoff, S. and Henikoff, J. G. (1992). Amino acid substitution matrices from protein blocks. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915-10919.)

Die Erfindung umfasst zudem Nukleinsäuremoleküle, die sich von einer der in SEQ ID NO: 1, 3, 5 oder 11 gezeigten Nukleotidsequenzen (und Teilen davon) aufgrund des degenerierten genetischen Codes unterscheiden und somit die gleiche Desaturase.

25 kodieren wie diejenige, die von den in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 gezeigten

Nukleotidsequenzen kodiert wird.

Zusätzlich zu den in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 gezeigten Desaturase-Nukleotidsequenzen erkennt der Fachmann, dass DNA-Sequenzpolymorphismen, die zu Änderungen in den Aminosäuresequenzen der Desaturasen oder Elongasen führen, innerhalb einer Population existieren können. Diese genetischen Polymorphismen im Desaturase- oder Elongase-Gen können zwischen Individuen innerhalb einer Population aufgrund von natürlicher Variation existieren. Diese natürlichen Varianten bewirken üblicherweise eine Varianz von 1 bis 5 % in der Nukleotidsequenz des Desaturase- oder Elongase-Gens. Sämtliche und alle dieser Nukleotidvariationen und daraus resultierende Aminosäure-polymorphismen in der Desaturase oder Elongase, die das Ergebnis natürlicher Variation sind und die funktionelle Aktivität von Desaturasen oder Elongasen nicht verändern, sollen im Umfang der Erfindung enthalten sein.

45 Für das erfindungsgemäße Verfahren vorteilhafte Nukleinsäuremoleküle können auf der Grundlage ihrer Homologie zu den hier offenbarten Desaturase- oder Elongase-Nukleinsäuren unter Verwendung

der Sequenzen oder eines Teils davon als Hybridisierungssonde gemäß Standard-Hybridisierungstechniken unter stringenten Hybridisierungsbedingungen isoliert werden. Dabei können beispielsweise isolierte Nukleinsäuremoleküle verwendet werden, die mindestens 5 15 Nukleotide lang sind und unter stringenten Bedingungen mit dem Nukleinsäuremolekülen, die eine Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 umfassen, hybridisieren. Es können auch Nukleinsäuren mindestens 25, 50, 100, 250 oder mehr Nukleotide verwendet 10 werden. Der Begriff "hybridisiert unter stringenten Bedingungen", wie hier verwendet, soll Hybridisierungs- und Waschbedingungen beschreiben, unter denen Nukleotidsequenzen, die mindestens 60 % homolog zueinander sind, gewöhnlich aneinander hybridisiert bleiben. Die Bedingungen sind vorzugsweise derart, dass Sequenzen, 15 die mindestens etwa 65 %, stärker bevorzugt mindestens etwa 70 % und noch stärker bevorzugt mindestens etwa 75 % oder stärker zueinander homolog sind, gewöhnlich aneinander hybridisiert bleiben. Diese stringenten Bedingungen sind dem Fachmann bekannt und lassen sich in Current Protocols in Molecular Biology, John 20 Wiley & Sons, N. Y. (1989), 6.3.1-6.3.6., finden. Ein bevorzugtes, nicht einschränkendes Beispiel für stringente Hybridisierungsbedingungen sind Hybridisierungen in 6 x Natriumchlorid/ Natriumcitrat (sodium chloride/sodiumcitrate = SSC) bei etwa 45°C, gefolgt von einem oder mehreren Waschschritten in 0,2 x SSC, 25 0,1 % SDS bei 50 bis 65°C. Dem Fachmann ist bekannt, dass diese Hybridisierungsbedingungen sich je nach dem Typ der Nukleinsäure und, wenn beispielsweise organische Lösungsmittel vorliegen, hinsichtlich der Temperatur und der Konzentration des Puffers unterscheiden. Die Temperatur unterscheidet sich beispielsweise 30 unter "Standard-Hybridisierungsbedingungen" je nach dem Typ der Nukleinsäure zwischen 42°C und 58°C in wässrigem Puffer mit einer Konzentration von 0,1 bis $5 \times SSC$ (pH 7,2). Falls organisches Lösungsmittel im obengenannten Puffer vorliegt, zum Beispiel 50 % Formamid, ist die Temperatur unter Standardbedingungen etwa 42°C. 35 Vorzugsweise sind die Hybridisierungsbedingungen für DNA: DNA-Hybride zum Beispiel 0,1 x SSC und 20°C bis 45°C, vorzugsweise zwischen 30°C und 45°C. Vorzugsweise sind die Hybridisierungsbedingungen für DNA:RNA-Hybride zum Beispiel 0,1 x SSC und 30°C bis 55°C, vorzugsweise zwischen 45°C und 55°C. Die vorstehend 40 genannten Hybridisierungstemperaturen sind beispielsweise für eine Nukleinsäure mit etwa 100 bp (= Basenpaare) Länge und einem G + C-Gehalt von 50 % in Abwesenheit von Formamid bestimmt. Der Fachmann weiß, wie die erforderlichen Hybridisierungsbedingungen anhand von Lehrbüchern, wie dem vorstehend erwähnten oder aus den 45 folgenden Lehrbüchern Sambrook et al., "Molecular Cloning", Cold Spring Harbor Laboratory, 1989; Hames und Higgins (Hrsgb.) 1985,

"Nucleic Acids Hybridization: A Practical Approach", IRL Press at

Oxford University Press, Oxford; Brown (Hrsgb.) 1991, "Essential Molecular Biology: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford, bestimmt werden können.

5 Zur Bestimmung der prozentualen Homologie (= Identität) von zwei Aminosäuresequenzen (z.B. einer der Sequenzen der SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32) oder von zwei Nukleinsäuren (z.B. einer der Sequenzen der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 10 oder 31) werden die Sequenzen zum Zweck des optimalen Vergleichs untereinander geschrieben (z.B. können Lücken in die Sequenz eines Proteins oder einer Nukleinsäure eingefügt werden, um ein optimales Alignment mit dem anderen Protein oder der anderen Nukleinsäure zu erzeugen). Die Aminosäurereste oder Nukleotide an 15 den entsprechenden Aminosäurepositionen oder Nukleotidpositionen werden dann verglichen. Wenn eine Position in einer Sequenz durch den gleichen Aminosäurerest oder das gleiche Nukleotid wie die entsprechende Stelle in der anderen Sequenz belegt wird, dann sind die Moleküle an dieser Position homolog (d.h. Aminosäure-20 oder Nukleinsäure-"Homologie", wie hier verwendet, entspricht Aminosäure- oder Nukleinsäure-"Identität"). Die prozentuale Homologie zwischen den beiden Sequenzen ist eine Funktion der Anzahl an identischen Positionen, die den Sequenzen gemeinsam sind (d.h. % Homologie = Anzahl der identischen Positionen/Gesamtanzahl der 25 Positionen x 100). Die Begriffe Homologie und Identität sind damit als Synonym anzusehen.

Ein isoliertes Nukleinsäuremolekül, das eine Desaturase oder Elongase kodiert, die zu einer Proteinsequenz der SEQ ID NO: 2, 30 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 homolog ist, kann durch Einbringen einer oder mehrerer Nukleotidsubstitutionen, -additionen oder -deletionen in eine Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 erzeugt werden, so dass eine oder mehrere 35 Aminosäuresubstitutionen, -additionen oder -deletionen in das kodierte Protein eingebracht werden. Mutationen können in eine der Sequenzen der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 durch Standardtechniken, wie stellenspezifische Mutagenese und PCR-vermittelte Mutagenese, ein-40 gebracht werden. Vorzugsweise werden konservative Aminosäuresubstitutionen an einer oder mehreren der vorhergesagten nichtessentiellen Aminosäureresten hergestellt. Bei einer "konservativen Aminosäuresubstitution" wird der Aminosäurerest gegen einen Aminosäurerest mit einer ähnlichen Seitenkette ausge-45 tauscht. Im Fachgebiet sind Familien von Aminosäureresten mit ähnlichen Seitenketten definiert worden. Diese Familien umfassen

Aminosäuren mit basischen Seitenketten (z.B. Lysin, Arginin,

41

Histidin), sauren Seitenketten (z.B. Asparaginsäure, Glutaminsäure), ungeladenen polaren Seitenketten (z.B. Glycin, Asparagin, Glutamin, Serin, Threonin, Tyrosin, Cystein), unpolaren Seitenketten, (z.B. Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Prolin, Phenyl-5 alanin, Methionin, Tryptophan), beta-verzweigten Seitenketten (z.B. Threonin, Valin, Isoleucin) und aromatischen Seitenketten (z.B. Tyrosin, Phenylalanin, Tryptophan, Histidin). Ein vorhergesagter nicht-essentieller Aminosäurerest in einer Desaturase oder Elongase wird somit vorzugsweise durch einen anderen Amino-10 säurerest aus der gleichen Seitenkettenfamilie ausgetauscht. Alternativ können bei einer anderen Ausführungsform die Mutationen zufallsgemäß über die gesamte oder einen Teil der Desaturase-kodierenden Sequenz eingebracht werden, z.B. durch Sättigungsmutagenese, und die resultierenden Mutanten können 15 nach der hier beschriebenen Desaturase-Aktivität durchmustert werden, um Mutanten zu identifizieren, die Desaturase- oder Elongase-Aktivität beibehalten. Nach der Mutagenese einer der Sequenzen der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 kann das kodierte Protein rekombinant 20 exprimiert werden, und die Aktivität des Proteins kann z.B. unter Verwendung der hier beschriebenen Tests bestimmt werden.

Diese Erfindung wird durch die nachstehenden Beispiele weiter veranschaulicht, die nicht als beschränkend aufgefaßt werden sollten. Der Inhalt sämtlicher in dieser Patentanmeldung zitierten Literaturstellen, Patentanmeldungen, Patente und veröffentlichten Patentanmeldungen ist hier durch Bezugnahme aufgenommen.

30 Beispielteil

Beispiel 1: Allgemeine Verfahren

a) Allgemeine Klonierungsverfahren:

Klonierungsverfahren, wie beispielsweise Restriktionsspaltungen, Agarosegelelektrophorese, Reinigung von DNA-Fragmenten, Transfer von Nukleinsäuren auf Nitrocellulose- und Nylonmembranen, Verbindung von DNA-Fragmenten, Transformation von Escherichia coli- und Hefe-Zellen, Anzucht von Bakterien und Sequenzanalyse rekombinanter DNA, wurden durchgeführt wie beschrieben in Sambrook et al. (1989) (Cold Spring Harbor Laboratory Press: ISBN 0-87969-309-6) oder Kaiser, Michaelis und Mitchell (1994) "Methods in Yeast Genetics" (Cold Spring Harbor Laboratory Press: ISBN 0-87969-451-3).

PCT/EP03/04297

b) Chemikalien

Die verwendeten Chemikalien wurden, wenn im Text nicht anders angegeben, in p. A.-Qualität von den Firmen Fluka (Neu-Ulm), 5 Merck (Darmstadt), Roth (Karlsruhe), Serva (Heidelberg) und Sigma (Deisenhofen) bezogen. Lösungen wurden unter Verwendung von reinem pyrogenfreiem Wasser, im nachstehenden Text als H2O bezeichnet, aus einer Milli-Q-Wassersystem-Wasserreinigungsanlage (Millipore, Eschborn) hergestellt. Restriktionsendo-10 nukleasen, DNA-modifizierende Enzyme und molekularbiologische Kits wurden bezogen von den Firmen AGS (Heidelberg), Amersham (Braunschweig), Biometra (Göttingen), Boehringer (Mannheim), Genomed (Bad Oeynhausen), New England Biolabs (Schwalbach/ Taunus), Novagen (Madison, Wisconsin, USA), Perkin-Elmer 15 (Weiterstadt), Pharmacia (Freiburg), Qiagen (Hilden) und Stratagene (Amsterdam, Niederlande). Wenn nicht anders angegeben, wurden sie nach den Anweisungen des Herstellers verwendet.

20 Beispiel 2: Isolierung von Gesamt-RNA und poly(A)+-RNA aus Pflanzen

Die Isolierung von Gesamt-RNA aus Pflanzen wie Lein und Raps etc. erfolgt nach einer bei Logemann et al beschriebenen 25 Methode (1987, Anal. Biochem. 163, 21) isoliert. Aus Moos kann die Gesamt-RNA Protonema-Gewebe nach dem GTC-Verfahren (Reski et al., 1994, Mol. Gen. Genet., 244:352-359) gewonnen werden.

Beispiel 3: Transformation von Agrobacterium

Die Agrobacterium-vermittelte Pflanzentransformation kann zum Beispiel unter Verwendung des GV3101- (pMP90-) (Koncz und Schell, Mol. Gen. Genet. 204 (1986) 383-396) oder LBA4404- (Clontech) oder C58C1 pGV2260 (Deblaere et al 1984, Nucl. Acids Res. 13, 4777-4788) Agrobacterium tumefaciens-Stamms durchgeführt werden. Die Transformation kann durch Standard-Transformationstechniken durchgeführt werden (ebenfalls Deblaere et al. 1984).

Beispiel 4: Pflanzentransformation

40

Die Agrobacterium-vermittelte Pflanzentransformation kann unter Verwendung von Standard-Transformations- und Regenerationstechniken durchgeführt werden (Gelvin, Stanton B., Schilperoort, Robert A., Plant Molecular Biology Manual, 2. Aufl., Dordrecht: 45 Kluwer Academic Publ., 1995, in Sect., Ringbuc Zentrale Signatur: BT11-P ISBN 0-7923-2731-4; Glick, Bernard R., Thompson, John E., Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, Boca Raton: CRC Press, 1993, 360 S., ISBN 0-8493-5164-2).

Beispielsweise kann Raps mittels Kotyledonen- oder Hypokotyl5 transformation transformiert werden (Moloney et al., Plant
Cell 8 (1989) 238-242; De Block et al., Plant Physiol. 91 (1989)
694-701). Die Verwendung von Antibiotika für die Agrobacteriumund Pflanzenselektion hängt von dem für die Transformation
verwendeten binären Vektor und Agrobacterium-Stamm ab. Die
10 Rapsselektion wird gewöhnlich unter Verwendung von Kanamycin
als selektierbarem Pflanzenmarker durchgeführt.

Der Agrobacterium-vermittelte Gentransfer in Lein (Linum usitatissimum) lässt sich unter Verwendung von beispielsweise 15 einer von Mlynarova et al. (1994) Plant Cell Report 13:282-285 beschriebenen Technik durchführen.

Die Transformation von Soja kann unter Verwendung von beispielsweise einer in EP-A-0 0424 047 (Pioneer Hi-Bred International) oder in EP-A-0 0397 687, US 5,376,543, US 5,169,770 (University Toledo) beschriebenen Technik durchgeführt werden.

Die Pflanzentransformation unter Verwendung von Teilchenbeschuss, Polyethylenglycol-vermittelter DNA-Aufnahme oder über die Siliziumcarbonatfaser-Technik ist beispielsweise bes 25 chrieben von Freeling und Walbot "The maize handbook" (1993) ISBN 3-540-97826-7, Springer Verlag New York).

Beispiel 5: Plasmide für die Pflanzentransformation

- 30 Zur Pflanzentransformation können binäre Vektoren, wie pBinAR (Höfgen und Willmitzer, Plant Science 66 (1990) 221-230) oder pGPTV (Becker et al 1992, Plant Mol. Biol. 20:1195-1197) verwendet werden. Die Konstruktion der binären Vektoren kann durch Ligation der cDNA in Sense- oder Antisense-Orientierung in 35 T-DNA erfolgen. 5' der cDNA aktiviert ein Pflanzenpromotor die Transkription der cDNA. Eine Polyadenylierungssequenz befindet sich 3' von der cDNA. Die binären Vektoren können unterschiedliche Markergene tragen. Insbesondere kann das nptII-Markergen codierend für Kanamycin-Resistenz vermittelt durch Neomycin-phosphotransferase gegen die herbizidresistente Form eines Acetolactat Synthasegens (AHAS oder ALS) ausgetauscht werden.
- Acetolactat Synthasegens (AHAS oder ALS) ausgetauscht werden.

 Das ALS-Gen ist beschrieben in Ott et al., J. Mol. Biol. 1996,

 263:359-360. Der v-ATPase-cl-Promotor kann in das Plasmid pBin19

 oder pGPTV kloniert werden und durch Klonierung vor das ALS
- 45 Codierregion für die Markergenexpression genutzt werden. Der genannte Promotor entspricht einem 1153 Basenpaarfragment aus beta-Vulgaris (Plant Mol Biol, 1999, 39:463-475). Dabei können

44

sowohl Sulphonylharnstoffe als auch Imidazolinone wie Imazethapyr oder Sulphonylharnstoffe als Antimetaboliten zur Selektion verwendet werden.

5 Die gewebespezifische Expression lässt sich unter Verwendung eines gewebespezifischen Promotors erzielen. Beispielsweise kann die samenspezifische Expression erreicht werden, indem der DC3-oder der LeB4- oder der USP-Promotor oder der Phaseolin-Promotor 5' der cDNA einkloniert wird. Auch jedes andere samenspezifische Promotorelement wie z.B. der Napin- oder Arcelin Promotor Goossens et al. 1999, Plant Phys. 120(4):1095-1103 und Gerhardt et al. 2000, Biochimica et Biophysica Acta 1490(1-2):87-98) kann verwendet werden. Zur konstitutiven Expression in der ganzen Pflanzen lässt sich der CaMV-35S-Promotor oder ein v-ATPase C1 Promotor verwenden.

Insbesondere lassen sich Gene codierend für Desaturasen und Elongasen durch Konstruktion mehrerer Expressionskassetten hintereinander in einen binären Vektor klonieren, um den Stoffwechselweg 20 in Pflanzen nachzubilden.

Innerhalb einer Expressionskassette kann das zu exprimierende Protein unter Verwendung eines Signalpeptids, beispielsweise für Plastiden, Mitochondrien oder das Endoplasmatische Retikulum, in ein zelluläres Kompartiment dirigiert werden (Kermode, Crit. Rev. Plant Sci. 15, 4 (1996) 285-423). Das Signalpeptid wird 5' im Leseraster mit der cDNA einkloniert, um die subzelluläre Lokalisierung des Fusionsprotein zu erreichen.

30 Beispiele für Multiexpressionskassetten sind im folgenden gegeben.

I.) Promotor-Terminator-Kassetten

Expressionskassetten bestehen aus wenigstens zwei funktionellen Einheiten wie einem Promotor und einem Terminator. Zwischen Promotor und Terminator können weitere gewünschte Gensequenzen wie Targetting-Sequenzen, Codierregionen von Genen oder Teilen davon etc. eingefügt werden. Zum Aufbau von Expressionskassetten werden Promotoren und Terminatoren (USP Promotor: Baeumlein et al., Mol Gen Genet, 1991, 225 (3):459-67); OCS Terminator: Gielen et al. EMBO J. 3 (1984) 835ff.) mithilfe der Polymerasekettenreaktion isoliert und mit flankierenden Sequenzen nach Wahl auf Basis von synthetischen Oligonukleotiden maßgeschneidert.

45

Folgende Oligonukleotide können beispielsweise verwendet werden:

USP1 vorne: CCGGAATTCGGCGCGCGCGAGCTCCTCGAGCAAATTTACACATTGCCA

USP2 vorne: CCGGAATTCGGCGCGCGCGAGCTCCTCGAGCAAATTTACACATTGCCA

5 USP3 vorne: CCGGAATTCGGCGCGCGCGAGCTCCTCGAGCAAATTTACACATTGCCA

USP1 hinten: AAAACTGCAGGCGGCCGCCCACCGCGGTGGGCTATGAAGAAATT

USP2 hinten:CGCGGATCCGCTGGCTATGAAGAAATT

USP3 hinten: TCCCCCGGGATCGATGCCGGCAGATCTGCTGGCTATGAAGAAATT

OCS1 vorne: AAAACTGCAGTCTAGAAGGCCTCCTGCTTTAATGAGATAT

10 OCS2 vorne: CGCGGATCCGATATCGGGCCCGCTAGCGTTAACCCTGCTTTAATGAGATAT

OCS3 vorne: TCCCCCGGGCCATGGCCTGCTTTAATGAGATAT

OCS1 hinten:CCCAAGCTTGGCGCCCGAGCTCGAATTCGTCGACGGACAATCAGTAAATTGA

OCS2 hinten: CCCAAGCTTGGCGCGCCGAGCTCGAATTCGTCGACGGACAATCAGTAAATTGA

OCS3 hinten:CCCAAGCTTGGCGCGCCGAGCTCGTCGACGGACAATCAGTAAATTGA

15

Die Methoden sind dem Fachmann auf dem Gebiet bekannt und sind allgemein literaturbekannt.

In einem ersten Schritt werden ein Promotor und ein Terminator

20 über PCR amplifiziert. Dann wird der Terminator in ein Empfängerplasmid kloniert und in einem zweiten Schritt der Promotor vor
den Terminator inseriert. Mithin erhält man eine Expressionskassette auf einem Trägerplasmid. Auf Basis des Plamides pUC19
werden die Plasmide pUT1, 2 und 3 erstellt.

25

Die Konstrukte sind erfindungsgemäß in SEQ ID NO: 33, 34 bis 42 definiert. Sie enthalten den USP-Promotor und den OCS Terminator. Auf Basis dieser Plasmide wird das Konstrukt pUT12 erstellt, indem pUT1 mittels SalI/ScaI geschnitten wird und pUT2 mittels

- 30 XhoI/ScaI geschnitten wird. Die die Expressionskassetten enthaltenden Fragmente werden ligiert und in E. coli XLI blue MRF transformiert. Es wird nach Vereinzelung ampicillinresistenter Kolonien DNA präpariert und per Restriktionsanalyse solche Klone identifiziert, die zwei Expressionskassetten enthalten. Die XhoI/
- 35 Sall Ligation kompatibler Enden hat dabei die beiden Schnittstellen XhoI und Sall zwischen den Expressionskassetten eleminiert. Es resultiert das Plasmid pUT12, das in SEQ ID NO: 36 definiert ist. Anschließend wird pUT12 wiederum mittels Sal/Scal geschnitten und pUT3 mittels XhoI/Scal geschnitten. Die die
- 40 Expressionskassetten enthaltenden Fragmente werden ligiert und in E. coli XLI blue MRF transformiert. Es wird nach Vereinzelung ampicillinresistenter Kolonien DNA präpariert und per Restriktionsanalyse solche Klone identifiziert, die drei Expressionskassetten enthalten. Auf diese Weise wird ein Set von Multi-
- 45 expressionskassetten geschaffen, dass für die Insertion

gewünschter DNA genutzt werden kann und in Tabelle 1 beschrieben wird und zudem noch weitere Expressionskassetten aufnehmen kann.

Diese enthalten folgende Elemente:

Tabelle 1

5

	PUC19-	Schnittstellen vor dem	Multiple	Schnittstellen hinter dem			
10	Derivat	USP Promotor	Klonierungs-Schnittstellen	OCS-Terminator			
		D DY/A T/O TOO I	BstXI/NotI/ PstI/XbaI/StuI	Sall/EcoRI/ Sacl/AscI/			
	PUT1	EcoRI/AscI/ SacI/XhoI	BSIXI/NOII/ PSII/Abai/Siiii	HindIII			
			D TYTE DIV A I/DT I/TII	Sall/EcoRI/ Sacl/AscI/			
	PUT2	EcoRI/AscI/ SacI/XhoI	BamHI/EcoRV/ ApaI/Nhel/ HpaI	HindIII			
15	PUT3	EcoRI/AscI/ SacI/XhoI	BglII/Nael/ ClaI/SmaI/Ncol	Sall/Sacl/ Ascl/HindIII			
	PUT12		BstXI/NotI/ PstI/XbaI/StuI	Sall/EcoRI/ Sacl/AscI/ HindIII			
	Doppel-	TO DIA TICATORI					
	expressions-	EcoRI/AscI/ SacI/XhoI	Und				
20	kasette		BamHI/EcoRV/ ApaI/NheI/ HpaI				
			1. BstXI/NotI/ PstI/XbaI/StuI				
	PUT123		und	Sall/Sacl/Ascl/HindIII			
	Tripel-	FcoRI/AscI/ SacI/XhoI	2. BamHI/EcoRV/ ApaI/Nhel/ HpaI				
	expressions-		und				
	kassette						
	, -		und 3. BglII/Nael/ Clal/Smal/Ncol				

Weiterhin lassen sich wie beschrieben und wie in Tabelle 2 näher spezifiziert weitere Multiexpressionskassetten mithilfe des

- i) USP-Promotors oder mithilfe des
- ii) 700 Basenpaare 3'-Fragmentes des LeB4-Promotors oder mithilfe des
- 30 iii) DC3-Promotors erzeugen und für samenspezifische Genexpression einsetzen.

Der DC3-Promotor ist beschrieben bei Thomas, Plant Cell 1996, 263:359-368 und besteht lediglich aus der Region -117 bis +26 weshalb er mithin einer der kleinsten bekannten samenspezifischen Promotoren darstellt. Die Expressionskassetten können mehrfach den selben Promotor enthalten oder aber über drei verschiedene Promotoren aufgebaut werden.

- Dem Sequenzprotokoll SEQ ID NO: 43 bis 49 sind die für die Pflanzentransformation verwendeten Vektoren sowie die Sequenzen der inserierten Gene/Proteine zu entnehmen.
- Vorteilhaft verwendete Polylinker- bzw. Polylinker-Terminator-Polylinker sind den Sequenzen SEQ ID NO: 50 bis 52 zu entnehmen.

25

Tabelle 2: Multiple Expressionskassetten

Plasmidname des	Schnittstellen vor dem	Multiple	Schnittstellen hinter		
		Klonierungs-Schnittstellen	dem OCS-Terminator		
PUT1			Sall/EcoRI/SacI/AscI/ HindIII		
(pUC19 mit	EcoRI/AscI/SacI/XhoI	(1) BstXI/NotI/PstI/ XbaI/StuI			
		(2) BamHI/EcoRV/ ApaI/NheI/	Sall/EcoRI/SacI/AscI/		
-	EcoRI/AscI/SacI/Xhoi	HpaI	HindIII		
	n nata 110 100 -1	(2) Palli Nicel / Clal /Small Nicel	Sall/Sacl/Ascl/HindIII		
_	ECORI/ASCI/Saci/Anoi	(3) Bgill/Nael/ Clar/Sinal/Ncol	Sall/Sach/Aschillian		
		(1) BetYI/NotI/ PstI/YbaI/StuI			
		- 1	Sall/EcoRI/SacI/AscI/		
, -	EcoRI/AscI/SacI/XhoI		HindIII		
		ripai			
		(1) BstXI/NotI/PstI/XbaI/StuI und	Sall/Sacl/Ascl/HindIII		
1 · ·		` '			
1	EcoRI/AscI/SacI/XhoI				
! -		-	·		
1		(C) - G			
	2	pUC19-Derivates jeweiligen Promotor PUT1 (pUC19 mit USP-OCS1) PDCT (pUC19 mit DC3-OCS) PleBT (pUC19-mit LeB4(700)-OCS) PUD12 (pUC 19 mit mit USP-OCS1 und mit DC3-OCS) PUDL123 Triple expression cassette (pUC19 mit USP/DC3 und	pUC19-Derivates jeweiligen Promotor PUT1 (pUC19 mit USP-OCS1) PDCT (pUC19 mit DC3-OCS) PleBT (pUC19-mit LeB4(700)-OCS) PUD12 (pUC 19 mit mit USP-OCS1 und mit DC3-OCS) PUDL123 Triple expression cassette (pUC19 mit USP/DC3 und Triple cypression Cassette		

* EcoRV Schnittstelle schneidet im 700 Basenpaarfragment des LeB4 Promotors (LeB4-700)

Analog lassen sich weitere Promotoren für Multigenkonstrukte erzeugen insbesondere unter Verwendung des

- a) 2,7 kB Fragmentes des LeB4-Promotors oder mithilfe des
- 30 b) Phaseolin-Promotors oder mithilfe des
 - c) konstitutiven v-ATPase c1-Promotors.

Es kann insbesondere wünschenswert sein, weitere besonders geeignete Promotoren zum Aufbau samenspezifischer Multiexpressions-35 kassetten wie z.B. den Napin-Promotor oder den Arcelin-5 Promotor zu verwenden.

II) Erstellung von Expressionskonstrukten, die Promotor,
 Terminator und gewünschte Gensequenz zur PUFA Genexpression
 in pflanzlichen Expressionskassetten enthalten.

In pUT123 wird zunächst über BstXI und XbaI die Δ-6-Elongase
Pp_PSE1 in die erste Kassette inseriert. Dann wird die
Δ-6-Desaturase aus Moos (Pp_des6) über BamHI/NaeI in die

45 zweite Kassette inseriert und schließlich die Δ-5-Desaturase
aus Phaeodactylum (Pt_des5) über BglII/NcoI in die dritte
Kassette inseriert. Das Dreifachkonstrukt erhält den Namen pARA1.

Unter Berücksichtigung sequenzspezifischer Restriktionsschnittstellen können weitere Expressionskassetten gemäß Tabelle 3 mit der Bezeichnung pARA2, pARA3 und pARA4 erstellt werden.

5 Tabelle 3: Kombinationen von Desaturasen und Elongasen

	Gen Plasmid	Δ-6-Desaturase	Δ-5-Desaturase	Δ-6-Elongase		
<u> </u>	pARA1	Pp_des6	Pt_des5	Pp_PSE1		
	pARA2	Pt_des6	Pt_des5	Pp_PSE1		
10	pARA3	Pt_des6	Ce_des5	Pp_PSE1		
	PARA4	Ce_des6	Ce_des5	Ce_PSE1		

Pp = Physcomitrella patens, Pt = Phaeodactylum tricornutum

Pp_PSE1 entspricht der Sequenz aus SEQ ID NO: 9.

PSE = PUFA spezifische Δ -6-Elongase

Ce_des5 = Δ -5-Desaturase aus Caenorhabditis elegans (Genbank Acc. Nr. AF078796)

Ce_des6 = Δ -6-Desaturase aus Caenorhabditis elegans elegans (Genbank Acc. Nr. AF031477, Basen 11-1342)

Ce_PSE1 = Δ -6-Elongase aus Caenorhabditis elegans (Genbank Acc. Nr. AF244356, Basen 1-867)

Auch weitere Desaturasen oder Elongasegensequenzen können in Expressionskassetten beschriebener Art inseriert werden wie z.B. Genbank Acc. Nr. AF231981, NM_013402, AF206662, AF268031, AF226273, AF110510 oder AF110509.

iii) Transfer von Expressionskassetten in Vektoren zur
Transformation von Agrobakterium tumefaciens und zur
Transformation von Pflanzen

Die so erstellten Konstrukte werden mittels AscI in den binären Vektor pGPTV inseriert. Die multiple Klonierungssequenz wird zu diesem Zweck um eine AscI Schnittstelle erweitert. Zu diesem Zweck wird der Polylinker als zwei doppelsträngige Oligonukleotide neu synthetisiert, wobei eine zusätzliche AscI DNA Sequenz eingefügt wird. Das Oligonukleotid wird mittels EcoRI und HindIII in den Vektor pGPTV inseriert. Die notwendigen Kloniertechniken sind dem Fachmann bekannt und können einfach wie in Beispiel 1 beschrieben nachgelesen werden.

WO 03/093482

49

Beispiel 6: Untersuchung der Expression eines rekombinanten Genproduktes in einem transformierten Organismus

Die Aktivität eines rekombinanten Genproduktes im transformierten 5 Wirtsorganismus kann auf der Transkriptions- und/oder der Translationsebene gemessen werden.

Ein geeignetes Verfahren zur Bestimmung der Menge an Transkription des Gens (ein Hinweis auf die Menge an RNA, 10 die für die Translation des Genproduktes zur Verfügung steht) ist die Durchführung eines Northern-Blots wie unten ausgeführt (als Bezugsstelle siehe Ausubel et al. (1988) Current Protocols in Molecular Biology, Wiley: New York, oder den oben erwähnten Beispielteil), wobei ein Primer, der so gestaltet ist, dass er 15 an das Gen von Interesse bindet, mit einer nachweisbaren Markierung (gewöhnlich radioaktiv oder chemilumineszent) markiert wird, so dass, wenn die Gesamt-RNA einer Kultur des Organismus extrahiert, auf einem Gel aufgetrennt, auf eine stabile Matrix transferiert und mit dieser Sonde inkubiert wird, die Bindung und 20 das Ausmaß der Bindung der Sonde das Vorliegen und auch die Menge der mRNA für dieses Gen anzeigt. Diese Information zeigt den Grad der Transkription des transformierten Gens an. Zelluläre Gesamt-RNA kann aus Zellen, Geweben oder Organen mit mehreren Verfahren; die alle im Fachgebiet bekannt sind, wie zum Beispiel 25 das von Bormann, E.R., et al. (1992) Mol. Microbiol. 6:317-326 beschriebene, präpariert werden.

Northern-Hybridisierung:

30 Für die RNA-Hybridisierung wurden 20 μ g Gesamt-RNA oder 1 μ g poly(A)+-RNA mittels Gelelektrophorese in Agarosegelen mit einer Stärke von 1,25 % unter Verwendung von Formaldehyd, wie beschrieben in Amasino (1986, Anal. Biochem. 152, 304) aufgetrennt, mittels Kapillaranziehung unter Verwendung von 10 x 35 SSC auf positiv geladene Nylonmembranen (Hybond N+, Amersham, Braunschweig) übertragen, mittels UV-Licht immobilisiert und 3 Stunden bei 68°C unter Verwendung von Hybridisierungspuffer (10 % Dextransulfat Gew./Vol., 1 M NaCl, 1 % SDS, 100 mg Heringssperma-DNA) vorhybridisiert. Die Markierung der DNA-Sonde mit 40 dem Highprime DNA labeling-Kit (Roche, Mannheim, Deutschland) erfolgte während der Vorhybridisierung unter Verwendung von alpha-32P-dCTP (Amersham, Braunschweig, Deutschland). Die Hybridisierung wurde nach Zugabe der markierten DNA-Sonde im gleichen Puffer bei 68°C über Nacht durchgeführt. Die Waschschritte wurden 45 zweimal für 15 min unter Verwendung von 2 X SSC und zweimal für

30 min unter Verwendung von 1 X SSC, 1 % SDS, bei 68°C durch-

50

geführt. Die Exposition der verschlossenen Filter wurde bei -70°C für einen Zeitraum von 1 bis 14 T durchgeführt.

Zur Untersuchung des Vorliegens oder der relativen Menge an von dieser mRNA translatiertem Protein können Standardtechniken, wie ein Western-Blot, eingesetzt werden (siehe beispielsweise Ausubel et al. (1988) Current Protocols in Molecular Biology, Wiley: New York). Bei diesem Verfahren werden die zellulären Gesamt-Proteine extrahiert, mittels Gelelektrophorese aufgetrennt, auf eine Matrix, wie Nitrozellulose, übertragen und mit einer Sonde, wie einem Antikörper, der spezifisch an das gewünschte Protein bindet, inkubiert. Diese Sonde ist gewöhnlich mit einer chemilumineszenten oder kolorimetrischen Markierung versehen, die sich leicht nachweisen lässt. Das Vorliegen und die Menge der beobachteten Markierung zeigt das Vorliegen und die Menge des gewünschten, in der Zelle vorliegenden mutierten Proteins an.

Beispiel 7: Analyse der Auswirkung der rekombinanten Proteine auf die Produktion des gewünschten Produktes

20 Die Auswirkung der genetischen Modifikation in Pflanzen, Pilzen, Algen, Ciliaten oder auf die Produktion einer gewünschten Verbindung (wie einer Fettsäure) kann bestimmt werden, indem die modifizierten Mikroorganismen oder die modifizierte Pflanze 25 unter geeigneten Bedingungen (wie den vorstehend beschriebenen) gezüchtet werden und das Medium und/oder die zellulären Komponenten auf die erhöhte Produktion des gewünschten Produktes (d.h. von Lipiden oder einer Fettsäure) untersucht wird. Diese Analysetechniken sind dem Fachmann bekannt und umfassen Spektroskopie, 30 Dünnschichtchromatographie, Färbeverfahren verschiedener Art, enzymatische und mikrobiologische Verfahren sowie analytische Chromatographie, wie Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (siehe beispielsweise Ullman, Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. A2, S. 89-90 und S. 443-613, VCH: Weinheim (1985); 35 Fallon, A., et al., (1987) "Applications of HPLC in Biochemistry" in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17; Rehm et al. (1993) Biotechnology, Bd. 3, Kapitel III: "Product recovery and purification", S. 469-714, VCH: Weinheim; Belter, P.A., et al. (1988) Bioseparations: downstream processing 40 for Biotechnology, John Wiley and Sons; Kennedy, J.F., und Cabral, J.M.S. (1992) Recovery processes for biological Materials, John Wiley and Sons; Shaeiwitz, J.A., und Henry, J.D. (1988) Biochemical Separations, in: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. B3; Kapitel 11, S. 1-27, VCH: Weinheim; und

45 Dechow, F.J. (1989) Separation and purification techniques in

biotechnology, Noyes Publications).

.51

Neben den oben erwähnten Verfahren werden Pflanzenlipide aus Pflanzenmaterial wie von Cahoon et al. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96 (22):12935-12940, und Browse et al. (1986) Analytic Biochemistry 152:141-145, beschrieben extrahiert. Die qualitative und quantitative Lipid- oder Fettsäureanalyse ist beschrieben bei Christie, William W., Advances in Lipid Methodology, Ayr/Scotland: Oily Press (Oily Press Lipid Library; 2); Christie, William W., Gas Chromatography and Lipids. A Practical Guide - Ayr, Scotland: Oily Press, 1989, Repr. 1992, IX, 307 S. (Oily Press Lipid Library; 1); "Progress in Lipid Research, Oxford: Pergamon Press, 1 (1952) - 16 (1977) u.d.T.: Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids CODEN.

PCT/EP03/04297

Zusätzlich zur Messung des Endproduktes der Fermentation ist

15 es auch möglich, andere Komponenten der Stoffwechselwege zu analysieren, die zur Produktion der gewünschten Verbindung verwendet werden, wie Zwischen- und Nebenprodukte, um die Gesamteffizienz der Produktion der Verbindung zu bestimmen. Die Analyseverfahren umfassen Messungen der Nährstoffmengen im Medium (z.B. Zucker,

- 20 Kohlenwasserstoffe, Stickstoffquellen, Phosphat und andere Ionen), Messungen der Biomassezusammensetzung und des Wachstums, Analyse der Produktion üblicher Metabolite von Biosynthesewegen und Messungen von Gasen, die während der Fermentation erzeugt werden. Standardverfahren für diese Messungen sind in Applied
- 25 Microbial Physiology; A Practical Approach, P.M. Rhodes und P.F. Stanbury, Hrsgb., IRL Press, S. 103-129; 131-163 und 165-192 (ISBN: 0199635773) und darin angegebenen Literaturstellen beschrieben.
- 30 Ein Beispiel ist die Analyse von Fettsäuren (Abkürzungen: FAME, Fettsäuremethylester; GC-MS, Gas-Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie; TAG, Triacylglycerin; TLC, Dünnschichtchromatographie).
- 35 Der unzweideutige Nachweis für das Vorliegen von Fettsäureprodukten kann mittels Analyse rekombinanter Organismen nach Standard-Analyseverfahren erhalten werden: GC, GC-MS oder TLC, wie verschiedentlich beschrieben von Christie und den Literaturstellen darin (1997, in: Advances on Lipid Methodology, Vierte
- **40** Aufl.: Christie, Oily Press, Dundee, 119-169; 1998, Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Verfahren, Lipide 33:343-353).

Das zu analysierende Material kann durch Ultraschallbehandlung, Mahlen in der Glasmühle, flüssigen Stickstoff und Mahlen oder

45 über andere anwendbare Verfahren aufgebrochen werden. Das Material muss nach dem Aufbrechen zentrifugiert werden. Das Sediment wird in Aqua dest. resuspendiert, 10 min bei 100°C

52

erhitzt, auf Eis abgekühlt und erneut zentrifugiert, gefolgt von Extraktion in 0,5 M Schwefelsäure in Methanol mit 2 % Dimethoxypropan für 1 Std. bei 90°C, was zu hydrolysierten Ölund Lipidverbindungen führt, die transmethylierte Lipide ergeben.

- 5 Diese Fettsäuremethylester werden in Petrolether extrahiert und schließlich einer GC-Analyse unter Verwendung einer Kapillarsäule (Chrompack, WCOT Fused Silica, CP-Wax-52 CB, 25 mikrom, 0,32 mm) bei einem Temperaturgradienten zwischen 170°C und 240°C für 20 min und 5 min bei 240°C unterworfen. Die Identität der erhaltenen
- 10 Fettsäuremethylester muss unter Verwendung von Standards, die aus kommerziellen Quellen erhältlich sind (d.h. Sigma), definiert werden.

Bei Fettsäuren, für die keine Standards verfügbar sind, muss die 15 Identität über Derivatisierung und anschließende GC-MS-Analyse gezeigt werden. Beispielsweise muss die Lokalisierung von Fettsäuren mit Dreifachbindung über GC-MS nach Derivatisierung mit 4,4-Dimethoxyoxazolin-Derivaten (Christie, 1998, siehe oben) gezeigt werden.

20

Expressionskonstrukte in heterologen mikrobiellen Systemen

Stämme, Wachstumsbedingungen und Plasmide

- 25 Der Escherichia coli-Stamm XL1 Blue MRF' kan (Stratagene) wurde zur Subklonierung der neuen Desaturase pPDesaturasel aus Physcomitrella patens verwendet. Für die funktionelle Expression dieses Gens verwendeten wir den Saccharomyces cerevisiae-Stamm INVSc 1 (Invitrogen Co.). E. coli wurde in Luria-Bertini-Brühe (LB,
- 30 Duchefa, Haarlem, Niederlande) bei 37°C kultiviert. Wenn nötig, wurde Ampicillin (100 mg/Liter) zugegeben, und 1,5 % Agar (Gew./Vol.) wurde für feste LB-Medien hinzugefügt. S. cerevisiae wurde bei 30°C entweder in YPG-Medium oder in komplettem Minimalmedium ohne Uracil (CMdum; siehe in: Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston,
- 35 R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A., Struhl, K., Albright, L.B., Coen, D.M., und Varki, A. (1995) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York) mit entweder 2 % (Gew./Vol.) Raffinose oder Glucose kultiviert. Für feste Medien wurden 2 % (Gew./Vol.) Bacto™-Agar (Difco)
- 40 hinzugefügt. Die zur Klonierung und Expression verwendeten Plasmide sind pUC18 (Pharmacia) und pYES2 (Invitrogen Co.).

'53

Beispiel 8: Klonierung und Expression PUFA-spezifischer Desaturasen und Elongaen

Für die Expression in Pflanzen wurden cDNA Klone aus 5 SeQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31. so modifiziert, dass lediglich die Codierregion mittels Polymerase Kettenreaktion unter Zuhilfenahme zweier Oligonukleotide amplifiziert werden. Dabei wurde darauf geachtet, dass eine Konsensusequenz vor dem Startcodon zur effizienten 10 Translation eingehalten wurde. Entweder wurde hierzu die Basenfolge ATA oder AAA gewählt und vor das ATG in die Sequenz eingefügt (Kozak, M. (1986) Point mutations define a sequence flanking the AUG initiator codon that modulates translation by eukaryotic ribosomes, Cell 44, 283-292). Vor diesem Konsensustriplett 15 wurde zusätzlich eine Restriktionsschnittstelle eingeführt, die kompatibel sein muss zur Schnittstelle des Zielvektors, in den das Fragment kloniert werden soll und mit dessen Hilfe die Genexpression in Mikroorganismen oder Pflanzen erfolgen soll.

20

Die PCR-Reaktion wurde mit Plasmid-DNA als Matrize in einem Thermocycler (Biometra) mit der Pfu-DNA-(Stratagene)Polymerase und dem folgenden Temperaturprogramm durchgeführt: 3 min bei 96°C, gefolgt von 30 Zyklen mit 30 s bei 96°C, 30 s bei 55°C und 2 min bei 72°C, 1 Zyklus mit 10 min bei 72°C und Stop bei 4°C. Die Anlagerungstemperatur wurde je nach gewählten Oligonukleotiden variiert. Pro Kilobasenpaare DNA ist von einer Synthesezeit von etwa einer Minute auszugehen. Weitere Parameter, die Einfluss auf die PCR haben wie z.B. Mg-Ionen, Salz, DNA Polymerase etc., 30 sind dem Fachmann auf dem Gebiet geläufig und können nach Bedarf variiert werden.

Die korrekte Größe des amplifizierten DNA-Fragments wurde mittels Agarose-TBE-Gelelektrophorese bestätigt. Die amplifizierte DNA

35 wurde aus dem Gel mit dem QIAquick-Gelextraktionskit (QIAGEN) extrahiert und in die SmaI-Restriktionsstelle des dephosphory-lierten Vektors pUC18 unter Verwendung des Sure Clone Ligations Kit (Pharmacia) ligiert, wobei die pUC-Derivate erhalten wurden. Nach der Transformation von E. coli XL1 Blue MRF' kan wurde eine DNA-Minipräparation (Riggs, M.G., & McLachlan, A. (1986) A simplified screening procedure for large numbers of plasmid minipreparation. BioTechniques 4, 310-313) an ampicillinresistenten Transformanden durchgeführt, und positive Klone mittels BamHI-Restriktionsanalyse identifiziert. Die Sequenz des klonierten PCR-Produktes wurde mittels Resequenzierung unter Verwendung des

PCT/EP03/04297

WO 03/093482

ABI PRISM Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin-Elmer, Weiterstadt) bestätigt.

Fettsäureanalyse

Die Gesamt-Fettsäuren wurden aus Pflanzensamen extrahiert und mittels Gaschromatographie analysiert.

Die Samen wurden mit 1 % Natriummethanolat in Methoanol aufgenommen und 20 min bei RT inkubiert. Anschließend wird mit NaCl

- 10 Lösung gewaschen und die FAME in 0,3 ml Heptan aufgenommen. Die Proben wurden auf einer ZEBRON-ZB-Wax-Kapillarsäule (30 m, 0,32 mm, 0,25 mikro m; Phenomenex) in einem Hewlett Packard-6850-Gaschromatograph mit einem Flammenionisationsdetektor aufgetrennt. Die Ofentemperatur wurde von 70°C (1 min halten) bis
- 15 200°C mit einer Rate von 20°C/min, dann auf 250°C (5 min halten) mit einer Rate von 5°C/min und schließlich auf 260°C mit einer Rate von 5°C/min programmiert. Stickstoff wurde als Trägergas verwendet (4,5 ml/min bei 70°C). Die Fettsäuren wurden durch Vergleich mit Retentionszeiten von FAME-Standards (SIGMA)

20 identifiziert.

Expressionsanalyse

Ergebnis der Expression einer Phaeodactylum tricornutum Δ -6-Acyl 25 Lipid Desaturase, einer Phaeodactylum tricornutum Δ -5-Acyl Lipid Desaturase und der delta-6 spezifischen Elongase in Tabaksamen:

Figur 2: Fettsäureprofil von transgenen Tabaksamen. Die Pflanzen wurden mit einer 3-fach Expressionskassette transformiert, die 30 unter der Kontrolle des USP Promotors die delta-6-, die delta-5- und die Physcomitrella patens PpPSE1 exprimiert (pARA2). Es wurden 100 transgene Tabak und Leinpflanzen hergestellt, von denen ca. 20 % Arachidonsäure im Samen synthetisierten.

35 Figur 3: Tabak Wildtypkontrolle.

Beispiel 9: Reinigung des gewünschten Produktes aus transformierten Organismen

- 40 Die Gewinnung des gewünschten Produktes aus Pflanzenmaterial oder Pilzen, Algen, Ciliaten, tierischen Zellen oder aus dem Überstand der vorstehend beschriebenen Kulturen kann durch verschiedene, im Fachgebiet bekannte Verfahren erfolgen. Wird das gewünschte Produkt nicht aus den Zellen sezerniert, können die Zellen aus
- 45 der Kultur durch langsame Zentrifugation geerntet werden, die Zellen können durch Standardtechniken, wie mechanische Kraft oder Ultraschallbehandlung, lysiert werden. Organe von Pflanzen können

55

mechanisch von anderem Gewebe oder anderen Organen getrennt werden. Nach der Homogenisation werden die Zelltrümmer durch Zentrifugation entfernt, und die Überstandsfraktion, welche die löslichen Proteine enthält, wird zur weiteren Reinigung 5 der gewünschten Verbindung aufbewahrt. Wird das Produkt aus gewünschten Zellen sezerniert, werden die Zellen durch langsame Zentrifugation aus der Kultur entfernt, und die Überstandsfraktion wird zur weiteren Reinigung aufbewahrt.

10 Die Überstandsfraktion aus jedem Reinigungsverfahren wird einer Chromatographie mit einem geeigneten Harz unterworfen, wobei das gewünschte Molekül entweder auf dem Chromatographieharz zurückgehalten wird, viele Verunreinigungen in der Probe jedoch nicht, oder die Verunreinigungen auf dem Harz zurückbleiben, die Probe 15 hingegen nicht. Diese Chromatographieschritte können wenn nötig wiederholt werden, wobei die gleichen oder andere Chromatographieharze verwendet werden. Der Fachmann ist in der Auswahl geeigneter Chromatographieharze und ihrer wirksamsten Anwendung für ein bestimmtes zu reinigendes Molekül bewandert. Das 20 gereinigte Produkt kann durch Filtration oder Ultrafiltration konzentriert und bei einer Temperatur aufbewahrt werden, bei der die Stabilität des Produktes maximal ist. Im Fachgebiet ist ein breites Spektrum an Reinigungsverfahren bekannt, und das vorstehende Reinigungsverfahren soll nicht 25 beschränkend sein. Diese Reinigungsverfahren sind zum Beispiel beschrieben in Bailey, J.E., & Ollis, D.F., Biochemical Engineering Fundamentals, McGraw-Hill: New York (1986).

Die Identität und Reinheit der isolierten Verbindungen kann 30 durch Standardtechniken des Fachgebiets bestimmt werden. Dazu gehören Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), spektroskopische Verfahren, Färbeverfahren, Dünnschichtchromatographie, insbesondere Dünnschichtchromatographie und Flammenionisationsdetektion (IATROSCAN, latron, Tokio, Japan), NIRS, Enzymtest oder 35 mikrobiologisch. Eine Übersicht über diese Analyseverfahren siehe in: Patek et al. (1994) Appl. Environ. Microbiol. 60:133-140; Malakhova et al. (1996) Biotekhnologiya 11:27-32; und Schmidt et al. (1998) Bioprocess Engineer. 19:67-70. Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (1996) Bd. A27, VCH: Weinheim, S. 89-90, 40 S. 521-540, S. 540-547, S. 559-566, 575-581 und S. 581-587; Michal, G (1999) Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology, John Wiley and Sons; Fallon, A., et al. (1987) Applications of HPLC in Biochemistry in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17.

56

Äquivalente

Der Fachmann erkennt oder kann viele Äquivalente der hier beschriebenen erfindungsgemäßen spezifischen Ausführungsformen 5 feststellen, indem er lediglich Routineexperimente verwendet. Diese Äquivalente sollen von den Patentansprüchen umfasst sein.

10

15

20

25

30

35

40

45

10

20

45

Patentansprüche

Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen
 Formel I:

in transgenen Pflanzen mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% bezogen auf die gesamten Fettsäuren dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren folgende Schritte umfasst:

- a) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in eine Pflanze, die für ein Polypeptid mit einer Δ -6-Desaturaseaktivität codiert; sowie
- b) Einbringen mindestens einer zweiten Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit einer Δ -6-Elongaseaktivität codiert; und
- 25 c) gegebenenfalls Einbringen einer dritten Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit einer Δ -5-Desaturaseaktivität codiert; und
- d) anschließend kultivieren und ernten der Pflanzen; und 30 wobei die Variablen und Substituenten in der Formeln I folgende Bedeutung haben:
- R¹ = -OH, Coenzym A-(Thioester), Phosphatidylcholin-, Phosphatidylethanolamin-, Phoshatidylglycerol-, Diphosphatidylglycerol-, Phosphatidylserin-, Phosphatidylinositol-, Sphingolipid-, Glycoshingolipid- oder einen Rest der folgenden allgemeinen Formel II

$$\begin{array}{c} H_{2}C-O-R^{2} \\ H_{2}C-O-R^{3} \\ H_{2}C-O-f \end{array} \tag{II}$$

58

 R^2 = H, Phosphatidylcholin-, Phosphatidylethanolamin-, Phoshatidylglycerol-, Diphosphatidylglycerol-, Phosphatidylserin-, Phosphatidylinositol-, Shingolipid-, Glycoshingolipid-, Glycoshingolipid- oder gesättigtes oder ungesättigtes C_2-C_{24} -Alkylcarbonyl-,

 R^3 = H, gesättigtes oder ungesättigtes C_2 - C_{24} -Alkylcarbonyl-, oder

10 R^2 und R^3 unabhängig voneinander einen Rest der allgemeinen Formel Ia

15
$$CH_2$$
 CH_2 CH_2 CH_2 CH_3 CH_3

n = 3, 4 oder 6, m = 3, 4 oder 5 und p = 0 oder 3.

20

5

- 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Substituenten R^2 und R^3 unabhängig voneinander $C_{10}-C_{22}-Alkyl-carbonyl-bedeuten.$
- 25 3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Substituenten R^2 und R^3 unabhängig voneinander C_{16} -, C_{18} -, C_{20} oder C_{22} -Alkylcarbonyl- bedeuten.
- 4. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Substituenten R^2 und R^3 unabhängig voneinander ungesättigtes C_{16} -, C_{18} -, C_{20} oder C_{22} -Alkylcarbonyl- mit ein, Zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen bedeuten.
- 5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die transgene Pflanze eine Ölfruchtpflanze ist.
- Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die transgene Pflanze ausgewählt aus der Gruppe Soja, Erdnuss, Raps, Canola, Lein, Nachtkerze, Königskerze, Distel, Haselnuss, Mandel, Macadamia, Avocado, Lorbeer, Wildrosen, Kürbis, Pistazien, Sesam, Sonnenblume, Färberdistel, Borretsch, Mais, Mohn, Senf, Hanf, Rhizinus, Olive, Calendula, Punica, Ölpalme, Walnuss oder Kokosnuß ist.

7. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindungen der Formel I durch Pressen oder Extraktion aus den transgenen Pflanzen in Form ihrer Öle, Fette, Lipide oder freien Fettsäuren gewonnen werden.

8. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die gemäß Anspruch 7 gewonnenen Öle, Fette, Lipide
oder freien Fettsäuren raffiniert werden.

- 10 9. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass man die in den Verbindungen der Formel I enthaltenden gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren freisetzt.
- 15 10. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren über ein alkalische Hydrolyse oder eine enzymatische Abspaltung freigesetzt werden.
- 20 11. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindungen der allgemeinen Formel I in den transgenen Pflanzen mit einem Gehalt von mindestens 5 Gew.-% bezogen auf die gesamten Fettsäuren enthalten sind.
- 25 12. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass, die für die Polypeptide mit einer Δ -6-Desaturaseaktivität, Δ -6-Elongaseaktivität oder Δ -5-Desaturaseaktivität codierenden Nukleinsäuresequenzen, ausgewählt aus der Gruppe sind:

30

35

einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29 oder SEQ ID NO: 31 dargestellten Sequenz,

b) Nukleinsäuresequenzen, die aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der in

SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30 oder SEQ ID NO: 32 dargestellten Aminosäuresequenzen erhalten werden,

60

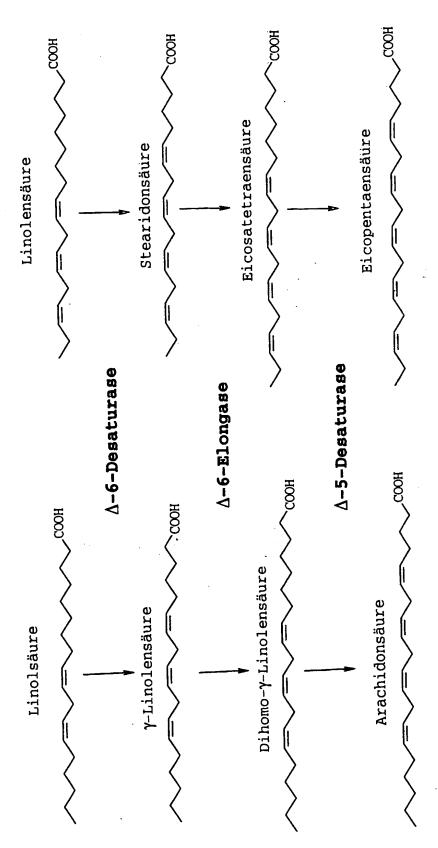
Derivate der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, c) SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29 oder SEQ ID NO: 31 5 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit der in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, 10 SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30 oder SEO ID NO: 32 dargestellten Aminosäuresequenzen codieren und mindestens 50 % Homologie auf Aminosäureebene aufweisen, ohne daß die enzymatische Wirkung der Polypeptide wesentlich reduziert ist. 15

- Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleinsäuresequenzen gemäß Anspruch 8 in einem Nukleinsäurekonstrukt mit einem oder mehreren Regulationssignalen verknüpft sind.
- 14. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass das Nukleinsäurekonstrukt zusätzliche Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthält ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenasen, Lipoxygenasen, Triacylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n).

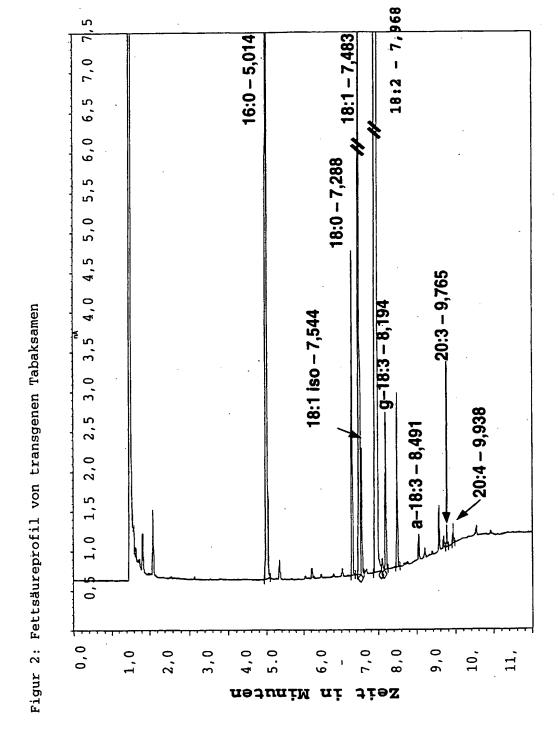
35

40

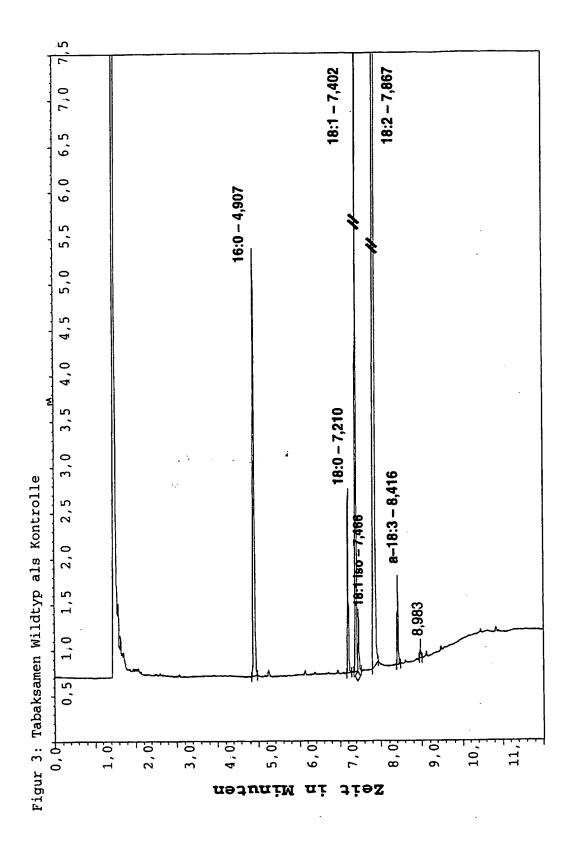
Figur 1: Biosynthesekette



THIS PAGE BLANK (USPT)



THIS PAGE BLANK (US: 4)



THIS PAGE BLANK (USE J)

SEQUENZPROTOKOLL

<110> BASF Plant Science GmbH

<120> Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren in Pflanzen

<130> 2002/271

<140> 2002_271

<141> 2002-04-26

<160> 64

<170> PatentIn Vers. 2.0

<210> 1

<211> 1687

<212> DNA

<213> Borago officinalis

<220>

<221> CDS

<222> (42)..(1388)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 1

tatctgccta ccctcccaaa gagagtagtc atttttcatc a atg gct gct caa atc 56 Met Ala Ala Gln Ile

1 5

aag aaa tac att acc tca gat gaa ctc aag aac cac gat aaa ccc gga 104
Lys Lys Tyr Ile Thr Ser Asp Glu Leu Lys Asn His Asp Lys Pro Gly
10 15 20

gat cta tgg atc tcg att caa ggg aaa gcc tat gat gtt tcg gat tgg 152
Asp Leu Trp Ile Ser Ile Gln Gly Lys Ala Tyr Asp Val Ser Asp Trp
25 30 35

gtg aaa gac cat cca ggt ggc agc ttt ccc ttg aag agt ctt gct ggt 200

Val Lys Asp His Pro Gly Gly Ser Phe Pro Leu Lys Ser Leu Ala Gly caa gag gta act gat gca ttt gtt gca ttc cat cct gcc tct aca tgg Gln Glu Val Thr Asp Ala Phe Val Ala Phe His Pro Ala Ser Thr Trp aag aat ctt gat aag ttt ttc act ggg tat tat ctt aaa gat tac tct Lys Asn Leu Asp Lys Phe Phe Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys Asp Tyr Ser gtt tct gag gtt tct aaa gat tat agg aag ctt gtg ttt gag ttt tct Val Ser Glu Val Ser Lys Asp Tyr Arg Lys Leu Val Phe Glu Phe Ser aaa atg ggt ttg tat gac aaa aaa ggt cat att atg ttt gca act ttg Lys Met Gly Leu Tyr Asp Lys Lys Gly His Ile Met Phe Ala Thr Leu tgc ttt ata gca atg ctg ttt gct atg agt gtt tat ggg gtt ttg ttt Cys Phe Ile Ala Met Leu Phe Ala Met Ser Val Tyr Gly Val Leu Phe tgt gag ggt gtt ttg gta cat ttg ttt tct ggg tgt ttg atg ggg ttt Cys Glu Gly Val Leu Val His Leu Phe Ser Gly Cys Leu Met Gly Phe ctt tgg att cag agt ggt tgg att gga cat gat gct ggg cat tat atg Leu Trp Ile Gln Ser Gly Trp Ile Gly His Asp Ala Gly His Tyr Met gta gtg tct gat tca agg ctt aat aag ttt atg ggt att ttt gct gca Val Val Ser Asp Ser Arg Leu Asn Lys Phe Met Gly Ile Phe Ala Ala aat tgt ctt tca gga ata agt att ggt tgg tgg aaa tgg aac cat aat Asn Cys Leu Ser Gly Ile Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn gca cat cac att gcc tgt aat agc ctt gaa tat gac cct gat tta caa Ala His His Ile Ala Cys Asn Ser Leu Glu Tyr Asp Pro Asp Leu Gln 200 205 210

tat ata cca ttc ctt gtt gtg tct tcc aag ttt ttt ggt tca ctc acc 728

Tyr Ile Pro Phe Leu Val Val Ser Ser Lys Phe Phe Gly Ser Leu Thr

215 220 225

tct cat ttc tat gag aaa agg ttg act ttt gac tct tta tca aga ttc 776
Ser His Phe Tyr Glu Lys Arg Leu Thr Phe Asp Ser Leu Ser Arg Phe
230 235 240 245

ttt gta agt tat caa cat tgg aca ttt tac cct att atg tgt gct gct 824
Phe Val Ser Tyr Gln His Trp Thr Phe Tyr Pro Ile Met Cys Ala Ala
250 255 260

agg ctc aat atg tat gta caa tct ctc ata atg ttg ttg acc aag aga 872

Arg Leu Asn Met Tyr Val Gln Ser Leu Ile Met Leu Leu Thr Lys Arg

265 270 275

aat gtg tcc tat cga gct cat gaa ctc ttg gga tgc cta gtg ttc tcg 920
Asn Val Ser Tyr Arg Ala His Glu Leu Leu Gly Cys Leu Val Phe Ser
280 285 290

att tgg tac ccg ttg ctt gtt tct tgt ttg cct aat tgg ggt gaa aga 968

Ile Trp Tyr Pro Leu Leu Val Ser Cys Leu Pro Asn Trp Gly Glu Arg

295 300 305

att atg ttt gtt att gca agt ttg tca gtg act gga atg caa caa gtt 1016

Ile Met Phe Val Ile Ala Ser Leu Ser Val Thr Gly Met Gln Gln Val

310 325 325

cag ttc tcc ttg aac cac ttc tct tca agt gtt tat gtt gga aag cct 1064
Gln Phe Ser Leu Asn His Phe Ser Ser Ser Val Tyr Val Gly Lys Pro
330 335 340

aaa ggg aat aat tgg ttt gag aaa caa acg gat ggg aca ctt gac att 1112 .

Lys Gly Asn Asn Trp Phe Glu Lys Gln Thr Asp Gly Thr Leu Asp Ile

345 350 355

tct tgt cct cct tgg atg gat tgg ttt cat ggt gga ttg caa ttc caa 1160

WO 03/093482						PCT/EP03/04297					3/04297					
Ser	Cys	Pro 360	Pro	Trp	Met	Asp	Trp 365	Phe	His	Gly	Gly	Leu 370	Gln	Phe	Gln	
att			cat His													1208
			tac Tyr													1256
		_	tct Ser													1304
			gca Ala 425													1352
			tgg Trp									aat	tacc	ctt		1398
agtt	cat	gta	ataa	tttg	ag a	ttat	gtat	c tc	ctat	gttt	gtg	tctt	gtc	ttgg	ttctac	1458
ttgt	tgg	agt	catt	gcaa	ct t	gtct	ttta	t gg	ttta	ttag	atg	tttt	tta	atat	atttta	1518
gagg	gttt	tgc	tttc	atct	cc a	ttat	tgat	g aa	taag	gagt	tgc	atat	tgt	caat	tgttgt	1578
gcto	caaț	atc	tgat	attt	tg g	aatg	tact	t tg	tacc	actg	tgt	tttc	agt	tgaa	gctcat	1638
gtgt	tact	tct	atag	actt	tg t	ttaa	atgg	t ta	tgaa	aaaa	aaa	aaaa	aa			1687

<210> 2

<211> 448

<212> PRT

<213> Borago officinalis

<400> 2

Met Ala Ala Gln Ile Lys Lys Tyr Ile Thr Ser Asp Glu Leu Lys Asn

1 5 10 15

His Asp Lys Pro Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile Gln Gly Lys Ala Tyr
20 25 30

Asp Val Ser Asp Trp Val Lys Asp His Pro Gly Gly Ser Phe Pro Leu 35 40 45

Lys Ser Leu Ala Gly Gln Glu Val Thr Asp Ala Phe Val Ala Phe His 50 55 60

Pro Ala Ser Thr Trp Lys Asn Leu Asp Lys Phe Phe Thr Gly Tyr Tyr
65 70 75 80

Leu Lys Asp Tyr Ser Val Ser Glu Val Ser Lys Asp Tyr Arg Lys Leu 85 90 95

Val Phe Glu Phe Ser Lys Met Gly Leu Tyr Asp Lys Lys Gly His Ile
100 105 110

Met Phe Ala Thr Leu Cys Phe Ile Ala Met Leu Phe Ala Met Ser Val

Tyr Gly Val Leu Phe Cys Glu Gly Val Leu Val His Leu Phe Ser Gly 130 135 140

Ala Gly His Tyr Met Val Val Ser Asp Ser Arg Leu Asn Lys Phe Met 165 170 175

Gly Ile Phe Ala Ala Asn Cys Leu Ser Gly Ile Ser Ile Gly Trp Trp 180 185 190

Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys Asn Ser Leu Glu Tyr 195 200 205

Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Phe Leu Val Val Ser Ser Lys Phe

WO 03/093482 PCT/EP03/04297

210 215 220

Phe Gly Ser Leu Thr Ser His Phe Tyr Glu Lys Arg Leu Thr Phe Asp 225 230 235 240

Ser Leu Ser Arg Phe Phe Val Ser Tyr Gln His Trp Thr Phe Tyr Pro 245 250 255

Ile Met Cys Ala Ala Arg Leu Asn Met Tyr Val Gln Ser Leu Ile Met 260 265 270

Leu Leu Thr Lys Arg Asn Val Ser Tyr Arg Ala His Glu Leu Leu Gly 275 280 285

Cys Leu Val Phe Ser Ile Trp Tyr Pro Leu Leu Val Ser Cys Leu Pro 290 295 300

Asn Trp Gly Glu Arg Ile Met Phe Val Ile Ala Ser Leu Ser Val Thr 305 310 315 320

Gly Met Gln Gln Val Gln Phe Ser Leu Asn His Phe Ser Ser Val 325 330 335

Tyr Val Gly Lys Pro Lys Gly Asn Asn Trp Phe Glu Lys Gln Thr Asp 340 345 350

Gly Thr Leu Asp Ile Ser Cys Pro Pro Trp Met Asp Trp Phe His Gly 355 360 365

Gly Leu Gln Phe Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Lys Met Pro Arg 370 375 380

Cys Asn Leu Arg Lys Ile Ser Pro Tyr Val Ile Glu Leu Cys Lys Lys 385

His Asn Leu Pro Tyr Asn Tyr Ala Ser Phe Ser Lys Ala Asn Glu Met 405 410 415

Thr Leu Arg Thr Leu Arg Asn Thr Ala Leu Gln Ala Arg Asp Ile Thr
420 425 430

WO 03/093482 PCT/EP03/04297

Lys Pro Leu Pro Lys Asn Leu Val Trp Glu Ala Leu His Thr His Gly
435 440 445

<210> 3 <211> 1192 <212> DNA <213> Physcomitrella patens <220> <221> CDS <222> (58)..(930) <223> Delta-6-Elongase <400> 3 ctgcttcgtc tcatcttggg ggtgtgattc gggagtgggt tgagttggtg gagcgca atg gag gtc gtg gag aga ttc tac ggt gag ttg gat ggg aag gtc tcg 105 Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser 15 10 1 cag ggc gtg aat gca ttg ctg ggt agt ttt ggg gtg gag ttg acg gat Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp 30 20 25 acg ccc act acc aaa ggc ttg ccc ctc gtt gac agt ccc aca ccc atc Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile 45 35 gtc ctc ggt gtt tct gta tac ttg act att gtc att gga ggg ctt ttg 249 Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu 60 55 50 tgg ata aag gcc agg gat ctg aaa ccg cgc gcc tcg gag cca ttt ttg 297 Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu 80 70 75 65

ctc caa gct ttg gtg ctt gtg cac aac ctg ttc tgt ttt gcg ctc agt

Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser

345

85 90 · 95

		atg														393
Leu	Tyr	Met	Суѕ	Val	Gly	Ile	Ala	Tyr	Gln	Ala	Ile	Thr	Trp	Arg	Tyr	
			100					105					110			
											•					
tct	ctc	tgg	ggc	aat	gca	tac	aat	cct	aaa	cat	aaa	gag	atg	gcg	att	441
Ser	Leu	Trp	Gly	Asn	Ala	Tyr	Asn	Pro	Lys	His	Lys	Glu	Met	Ala	Ile	
		115					120					125				·
ctg	gta	tac	ttg	ttc	tac	atg	tct	aag	tac	gtg	gaa	ttc	atg	gat	acc	489
Leu	Val	Tyr	Leu	Phe	Tyr	Met	Ser	Lys	Tyr	Val	Glu	Phe	Met	Asp	Thr	
	130					135					140					
											٠					
gtt	atc	atg	ata	ctg	aag	cgc	agc	acc	agg	caa	ata	agc	ttc	ctc	cac	537
Val	Ile	Met	Ile	Leu	Lys	Arg	Ser	Thr	Arg	Gln	Ile	Ser	Phe	Leu	His	
145					150					155					160	
gtt	tat	cat	cat	tct	tca	att	tcc	ctc	att	tgg	tgg	gct	att	gct	cat	585
Val	Tyr	His	His	Ser	Ser	Ile	Ser	Leu	Ile	Trp	Trp	Ala	Ile	Ala	His	
				165					170					175		
cac	gct	cct	ggc	ggt	gaa	gca	tat	tgg	tct	gcg	gct	ctg	aac	tca	gga	633
		Pro														
			180	_			_	185					190			
gtg	cat	gtt	ctc	atg	tat	gcg	tat	tac	ttc	ttg	gct	gcc	tgc	ctt	cga	681
		Val														
		195					200					205				
agt	agc	cca	aag	tta	aaa	aat	aag	tac	ctt	ttt	tgg	ggc	agg	tac	ttg	729
		Pro														
	210		-		_	215	_				220					
aca	caa	ttc	caa	atg	ttc	cag	ttt	atg	ctg	aac	tta	gtg	cag	gct	tac	777
		Phe														
225			-		230					235					240	
tac	gac	atg	aaa	aco	aat	aca	cca	tat	cca	caa	taa	cta	atc	aag	att	825
	_	Met														
- 1 -											- 1-			-		

WO 03/093482	PCT/EP03/04297

250 255 245 ttg ttc tac tac atg atc tcg ttg ctg ttt ctt ttc ggc aat ttt tac 873 Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr 270 260 265 gta caa aaa tac atc aaa ccc tct gac gga aag caa aag gga gct aaa 921 Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys 285 280 275 970 act gag tga gctgtatcaa gccatagaaa ctctattatg ttagaacctg Thr Glu 290 aagttggtgc tttcttatct ccacttatct tttaagcagc atcagttttg aaatgatgtg 1030 tgggcgtggt ctgcaagtag tcatcaatat aatcggcctg agcacttcag atggattgtt 1090 agaacatgag taaaagcggt tattacggtg tttattttgt accaaatcac cgcacgggtg 1150 1192 aattgaaata tttcagattt gatcaatttc atctgaaaaa aa

<210> 4

<211> 290

<212> PRT

<213> Physcomitrella patens

<400> 4

Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser 15 10 1 5

Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp 25 20

Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile 40 45 35

Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu 60 55 50

Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu 65 70 75 80

Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser

Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln Ala Ile Thr Trp Arg Tyr 100 105 110

Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys His Lys Glu Met Ala Ile 115 120 125

Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr Val Glu Phe Met Asp Thr 130 135 140

Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg Gln Ile Ser Phe Leu His 145 150 155 160

Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile Trp Trp Ala Ile Ala His 165 170 175

His Ala Pro Gly Gly Glu Ala Tyr Trp Ser Ala Ala Leu Asn Ser Gly
180 185 190

Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe Leu Ala Ala Cys Leu Arg 195 200 205

Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu Phe Trp Gly Arg Tyr Leu 210 215 220

Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu Asn Leu Val Gln Ala Tyr 225 230 235 240

Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile
245 250 255

Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr 260 265 270

Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys 275 280 285

Thr Glu

290

<210> 5

<211> 1054

<212> DNA

<213> Thraustochytrium

<220>

<221> CDS

<222> (43)..(858)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 5

gaatteggea egagagegeg eggageggag aceteggeeg eg atg atg gag eeg 54 Met Met Glu Pro

1

ctc gac agg tac agg gcg ctg gcg gag ctc gcc gcg agg tac gcc agc 102
Leu Asp Arg Tyr Arg Ala Leu Ala Glu Leu Ala Ala Arg Tyr Ala Ser
5 10 15 20

tcg gcg gcc ttc aag tgg caa gtc acg tac gac gcc aag gac agc ttc 150 Ser Ala Ala Phe Lys Trp Gln Val Thr Tyr Asp Ala Lys Asp Ser Phe 25 30 35

gtc ggg ccc ctg gga atc cgg gag ccg ctc ggg ctc ctg gtg ggc tcc 198
Val Gly Pro Leu Gly Ile Arg Glu Pro Leu Gly Leu Leu Val Gly Ser
40 45 50

gtg gtc ctc tac ctg agc ctg ctg gcc gtg gtc tac gcg ctg cgg aac 246
Val Val Leu Tyr Leu Ser Leu Leu Ala Val Val Tyr Ala Leu Arg Asn
55 60 65

tac ctt ggc ggc ctc atg gcg ctc cgc agc gtg cat aac ctc ggg ctc 294
Tyr Leu Gly Gly Leu Met Ala Leu Arg Ser Val His Asn Leu Gly Leu

WO 03/093482 PCT/EP03/04297

70 75 80 ·

	tgc	ctc	ttc	tcg	ggc	gcc	gtg	tgg	atc	tac	acg	agc	tac	ctc	atg	atc	342
,	Cys	Leu	Phe	Ser	Gly	Ala	Val	Trp	Ile	Tyr	Thr	Ser	Tyr	Leu	Met	Ile	
	85					` 90					95					100	
	cag	gat	ggg	cac	ttt	cgc	agc	ctc	gag	gcg	gca	acg	tgc	gag	ccg	ctc	390
	Gln	Asp	Gly	His	Phe	Arg	Ser	Leu	Glu	Ala	Ala	Thr	Cys	Glu	Pro	Leu	
		_			105					110					115		
	aag	cat	ccg	cac	ttc	cag	ctc	atc	agc	ttg	ctc	ttt	gcg	ctg	tcc	aag	438
	Lys	His	Pro	His	Phe	Gln	Leu	Ile	Ser	Leu	Leu	Phe	Ala	Leu	Ser	Lys	
				120					125					130			
	atc	tgg	gag	tgg	ttc	gac	acg	gtg	ctc	ctc	atc	gtc	aag	ggc	aac	aag	486
															Asn		
		_	135					140					145				
	ctc	cac	ttc	ctg	cac	gtc	ttg	cac	cac	gcc	acg	acc	ttt	tgg	ctc	tac	534
		_													Leu		
		150					155					160					
	acc	atc	gac	cac	atc	ttt	ctc	tcg	tcc	atc	aag	tac	ggc	gtc	gcg	gtc	582
															Ala		
	165					170					- 175	_				180	
	aat	act	ttc	atc	cac	acc	atc	atg	tac	gcg	cac	tac	ttc	cgc	cca	ttc	630
		_													Pro		
					185				_	190					195		
	cca	aag	aac	ttg	cqc	ccg	ctt	att	acg	cag	ttg	cag	atc	gtc	cag	ttc	678
															Gln		
		-	_	200	_				205					210			
	att	ttc	agc	atc	aac	atc	cat	acc	acc	att	tac	tgg	cac	tac	gac	tgc	726
															Asp		
			215		2			220			-	_	225	_			
	gar	ככת	ctc	ata	cat	acc	cac	ttt	taa	σaa	tac	atc	aco	ccc	tac	ctt	774
															Tyr		
	-Lu								- 1-						-		

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	12	

230 235 240

Phe Val Val Pro Phe Leu Ile Leu Phe Phe Asn Phe Tyr Leu Gln Gln 245 250 255 260

tac gtc ctc gcg ccc gca aaa acc aag aag gca tag ccacgtaaca 868
Tyr Val Leu Ala Pro Ala Lys Thr Lys Lys Ala
265 270

<210> 6

<211> 271

<212> PRT

<213> Thraustochytrium

<400> 6

Met Met Glu Pro Leu Asp Arg Tyr Arg Ala Leu Ala Glu Leu Ala Ala 1 5 10 15

Arg Tyr Ala Ser Ser Ala Ala Phe Lys Trp Gln Val Thr Tyr Asp Ala 20 25 30

Lys Asp Ser Phe Val Gly Pro Leu Gly Ile Arg Glu Pro Leu Gly Leu 35 40 45

Leu Val Gly Ser Val Val Leu Tyr Leu Ser Leu Leu Ala Val Val Tyr
50 55 60

Ala Leu Arg Asn Tyr Leu Gly Gly Leu Met Ala Leu Arg Ser Val His
65 70 75 80

Asn Leu Gly Leu Cys Leu Phe Ser Gly Ala Val Trp Ile Tyr Thr Ser 85 90 95

Tyr Leu Met Ile Gln Asp Gly His Phe Arg Ser Leu Glu Ala Ala Thr 100 105 110

Cys Glu Pro Leu Lys His Pro His Phe Gln Leu Ile Ser Leu Leu Phe 115 120 125

Ala Leu Ser Lys Ile Trp Glu Trp Phe Asp Thr Val Leu Leu Ile Val
130 135 140

Lys Gly Asn Lys Leu Arg Phe Leu His Val Leu His His Ala Thr Thr 145 150 155 160

Phe Trp Leu Tyr Ala Ile Asp His Ile Phe Leu Ser Ser Ile Lys Tyr 165 170 175

Gly Val Ala Val Asn Ala Phe Ile His Thr Val Met Tyr Ala His Tyr 180 185 190

Phe Arg Pro Phe Pro Lys Gly Leu Arg Pro Leu Ile Thr Gln Leu Gln
195 200 205

Ile Val Gln Phe Ile Phe Ser Ile Gly Ile His Thr Ala Ile Tyr Trp
210 215 220

His Tyr Asp Cys Glu Pro Leu Val His Thr His Phe Trp Glu Tyr Val 225 230 235 240

Thr Pro Tyr Leu Phe Val Val Pro Phe Leu Ile Leu Phe Phe Asn Phe 245 250 255

Tyr Leu Gln Gln Tyr Val Leu Ala Pro Ala Lys Thr Lys Lys Ala 260 265 270

<210> 7

<211> 2040

<212> DNA

WO 03/093482 PCT/EP03/04297

<213> Ceratodon purpureus

<220>

<221> CDS

<222> (176)..(1627)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 7

ctcaggcagg tctcagttga tgagacgctg agttctgaat cctttgagct gtgtcaggct 60

cggcacttgt gggatggtga aggagtgatc gatcaggagt gcaggagctg cattagtttc 120

tcagggtcga tcaggttatt ctgaaaaagg ctgcgtctgt gagcagtttg caaaa atg 178
Met

1

gcc ctc gtt acc gac ttt ctg aac ttt ctg ggc acg aca tgg agc aag 226
Ala Leu Val Thr Asp Phe Leu Asn Phe Leu Gly Thr Thr Trp Ser Lys
5 10 15

tac age gtg tac acc cat age tat get gga aac tat ggg cet act ttg 274

Tyr Ser Val Tyr Thr His Ser Tyr Ala Gly Asn Tyr Gly Pro Thr Leu

20 25 30

aag cac gcc aaa aag gtt tct gct caa ggt aaa act gcg gga cag aca 322 Lys His Ala Lys Lys Val Ser Ala Gln Gly Lys Thr Ala Gly Gln Thr 35 40 45

ctg aga cag aga tcg gtg cag gac aaa aag cca ggc act tac tct ctg 370 Leu Arg Gln Arg Ser Val Gln Asp Lys Lys Pro Gly Thr Tyr Ser Leu 50 55 60 65

gcc gat gtt gct tct cac gac agg cct gga gac tgc tgg atg atc gtc 418
Ala Asp Val Ala Ser His Asp Arg Pro Gly Asp Cys Trp Met Ile Val
70 . 75 80

aaa gag aag gtg tat gat att agc cgt ttt gcg gac gac cac cct gga 466 Lys Glu Lys Val Tyr Asp Ile Ser Arg Phe Ala Asp Asp His Pro Gly 85 90 95 WO 03/093482 PCT/EP03/04297

ggg acg gta att agc acc tac ttt ggg cgg gat ggc aca gac gtt ttc Gly Thr Val Ile Ser Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe gca aca ttc cat cca cct gcc gca tgg aag caa ctc aat gac tac tac Ala Thr Phe His Pro Pro Ala Ala Trp Lys Gln Leu Asn Asp Tyr Tyr att gga gac ctt gct agg gaa gag ccc ctt gat gaa ttg ctt aaa gac Ile Gly Asp Leu Ala Arg Glu Glu Pro Leu Asp Glu Leu Leu Lys Asp tac aga gat atg aga gcc gag ttt gtt aga gaa ggg ctt ttc aag agt Tyr Arg Asp Met Arg Ala Glu Phe Val Arg Glu Gly Leu Phe Lys Ser tcc aag gcc tgg ttc ctg ctt cag act ctg att aat gca gct ctc ttt Ser Lys Ala Trp Phe Leu Leu Gln Thr Leu Ile Asn Ala Ala Leu Phe gct gcg agc att gcg act atc tgt tac gac aag agt tac tgg gct att Ala Ala Ser Ile Ala Thr Ile Cys Tyr Asp Lys Ser Tyr Trp Ala Ile gtg ctg tca gcc agt ttg atg ggt ctc ttc gtc caa cag tgt gga tgg Val Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe Val Gln Gln Cys Gly Trp ctt gcc cat gat ttc ctt cat caa cag gtc ttt gag aac cgt acc gcg Leu Ala His Asp Phe Leu His Gln Gln Val Phe Glu Asn Arg Thr Ala aac too tto ttt ggc tat ttg tto ggc aat tgc gtg ctt ggc ttt agt Asn Ser Phe Phe Gly Tyr Leu Phe Gly Asn Cys Val Leu Gly Phe Ser gta tca tgg tgg agg acg aag cac aac att cat cat act gct ccg aat Val Ser Trp Trp Arg Thr Lys His Asn Ile His His Thr Ala Pro Asn

gag tgc gac gaa cag tac aca cct cta gac gaa gac att gat act ctc Glu Cys Asp Glu Gln Tyr Thr Pro Leu Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu ccc atc att gcc tgg agc aag gaa att ttg gcc acc gtt gag agc aag Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Glu Ile Leu Ala Thr Val Glu Ser Lys aga att ttg cga gtg ctt caa tat cag cac tac atg att ctg cct cta Arg Ile Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His Tyr Met Ile Leu Pro Leu ttg ttc atg gcc cgg tac agt tgg act ttt gga agt ttg ctc ttc aca Leu Phe Met Ala Arg Tyr Ser Trp Thr Phe Gly Ser Leu Leu Phe Thr ttc aat cct gat ttg agc acg acc aag gga ttg ata gag aag gga aca Phe Asn Pro Asp Leu Ser Thr Thr Lys Gly Leu Ile Glu Lys Gly Thr gtt gct ttt cac tac gcc tgg ttc agt tgg gct gcg ttc cat att ttg Val Ala Phe His Tyr Ala Trp Phe Ser Trp Ala Ala Phe His Ile Leu ccg ggt gtc gct aag cct ctt gcg tgg atg gta gca act gag ctt gtg Pro Gly Val Ala Lys Pro Leu Ala Trp Met Val Ala Thr Glu Leu Val gcc ggt ttg ttg gga ttc gtg ttt acg ttg agt cac aat gga aag Ala Gly Leu Leu Gly Phe Val Phe Thr Leu Ser His Asn Gly Lys gag gtt tac aat gaa tcg aag gac ttc gtg aga gcc cag gtt att acc Glu Val Tyr Asn Glu Ser Lys Asp Phe Val Arg Ala Gln Val Ile Thr acc cgt aac acc aag cga ggc tgg ttc aac gat tgg ttc act ggg gga Thr Arg Asn Thr Lys Arg Gly Trp Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly

WO 03/093482 PCT/EP03														3/04297		
ctc	gac	acc	cag	att	gag	cat	cac	cta			aca	atq	acc	agg	cac	1474
			_											Arg		
		420					425					430		_		
aac	tac	CCC	aag	atc	gca	cct	cag	gtc	gag	gct	ctt	tgc	aag	aag	cac	1522
Asn	Tyr	Pro	Lys	Ile	Ala	Pro	Gln	Val	Glu	Ala	Leu	Cys	Lys	Lys	His	
	435					440					445					
ggc	ctc	gag	tac	gat	aat	gtc	tcc	gtc	gtt	ggt	gcc	tct	gtc	gcg	gtt	1570
Gly	Leu	Glu	Tyr	Asp	Asn	Val	Ser	Val	Val	Gly	Ala	Ser	Val	Ala	Val	
450					455					460					465	
gtg	aag	gcg	ctc	aag	gaa	att	gct	gat	gaa	gcg	tca	att	çgg	ctt	cac	1618
Val	Lys	Ala	Leu	Lys	Glu	Ile	Ala	Asp	Glu	Ala	Ser	Ile	Arg	Leu	His	
				470					475					480		
_		taa	gaaa	atcgi	cg a	actt	tgad	ct at	tcat	tttt	tto	egect	ggc			1667
Ala	His															
																1000
taco	ctcaa	aat q	gttc	ggag	gc ag	ggtgo	cttg	g cag	gtgtg	gttc	aaco	ggag	aca (cacto	gaaaat	1727
																1707
gtg	cagaa	atc (catti	ccag	ga aa	attac	cati	cct	agct	caaa	tctt	CCCCI	נננ (accag	ggtcgg	1/8/
	4			- 4- 4							~				~~+>+	1017
atai	atga	aaa (יבבני	ttga	at go	caaca	aagta	ı gca	attec	adit	yaaç	yacai	LLG	ctega	agatat	1047
					- 0 - 20			e cat	- act:	arta	cata	at car	7CG /	at t a	ccgaga	1907
aati	Lege	agt ç	JCCC	Laci	LC as	acaai	Jeace	a cg	Jack	agec	Cate	accg	geg :	gceg.	Jegaga	150,
~++1	- 2 - 2 1	rta t	tadi	taa	ra ca	a a c c c	actac	t ato	rtani	ata	aatt	tet	att	teca	catgta	1967
gcc.	Juca	· ·	cag	-cgg.	-a -c	aucg	ag cas	g uc	, cag	Jysu	uuu			eeeg.	Ja 5 9 5 4	
atai	taci	tat d	saata	atat:	פר כי	rttai	ctai		tecta	aaaa	aaaa	aaaa	aaa i	aaaaa	aaaaa	2027
,		:	,				 ·	,								•
aaaa	aaaa	aaa a	aaa													2040
		_ •													•	

<210> 8

<211> 483

<212> PRT

<213> Ceratodon purpureus

Met Ala Leu Val Thr Asp Phe Leu Asn Phe Leu Gly Thr Thr Trp Ser

1 5 10 15

Lys Tyr Ser Val Tyr Thr His Ser Tyr Ala Gly Asn Tyr Gly Pro Thr
20 25 30

Leu Lys His Ala Lys Lys Val Ser Ala Gln Gly Lys Thr Ala Gly Gln
35 40 45

Thr Leu Arg Gln Arg Ser Val Gln Asp Lys Lys Pro Gly Thr Tyr Ser
50 55 60

Leu Ala Asp Val Ala Ser His Asp Arg Pro Gly Asp Cys Trp Met Ile
65 70 75 80

Val Lys Glu Lys Val Tyr Asp Ile Ser Arg Phe Ala Asp Asp His Pro 85 90 95

Gly Gly Thr Val Ile Ser Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val

Phe Ala Thr Phe His Pro Pro Ala Ala Trp Lys Gln Leu Asn Asp Tyr 115 120 125

Tyr Ile Gly Asp Leu Ala Arg Glu Glu Pro Leu Asp Glu Leu Leu Lys 130 135 140

Asp Tyr Arg Asp Met Arg Ala Glu Phe Val Arg Glu Gly Leu Phe Lys 145 150 155 160

Ser Ser Lys Ala Trp Phe Leu Leu Gln Thr Leu Ile Asn Ala Ala Leu 165 170 175

Phe Ala Ala Ser Ile Ala Thr Ile Cys Tyr Asp Lys Ser Tyr Trp Ala 180 185 190

Ile Val Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe Val Gln Gln Cys Gly
195 200 205

Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His Gln Gln Val Phe Glu Asn Arg Thr

210 215 220

Ala Asn Ser Phe Phe Gly Tyr Leu Phe Gly Asn Cys Val Leu Gly Phe 225 230 235 240

Ser Val Ser Trp Trp Arg Thr Lys His Asn Ile His His Thr Ala Pro 245 250 255

Asn Glu Cys Asp Glu Gln Tyr Thr Pro Leu Asp Glu Asp Ile Asp Thr 260 265 270

Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Glu Ile Leu Ala Thr Val Glu Ser 275 280 285

Lys Arg Ile Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His Tyr Met Ile Leu Pro 290 295 300

Leu Leu Phe Met Ala Arg Tyr Ser Trp Thr Phe Gly Ser Leu Leu Phe 305 310 315 320

Thr Phe Asn Pro Asp Leu Ser Thr Thr Lys Gly Leu Ile Glu Lys Gly 325 330 335

Thr Val Ala Phe His Tyr Ala Trp Phe Ser Trp Ala Ala Phe His Ile 340 345 350

Leu Pro Gly Val Ala Lys Pro Leu Ala Trp Met Val Ala Thr Glu Leu 355 360 365

Val Ala Gly Leu Leu Gly Phe Val Phe Thr Leu Ser His Asn Gly 370 375 380

Lys Glu Val Tyr Asn Glu Ser Lys Asp Phe Val Arg Ala Gln Val Ile 385 390 395 400

Thr Thr Arg Asn Thr Lys Arg Gly Trp Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly
405 410 415

Gly Leu Asp Thr Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg
420 425 430

His Asn Tyr Pro Lys Ile Ala Pro Gln Val Glu Ala Leu Cys Lys 445 435 440

His Gly Leu Glu Tyr Asp Asn Val Ser Val Val Gly Ala Ser Val Ala 455 450

Val Val Lys Ala Leu Lys Glu Ile Ala Asp Glu Ala Ser Ile Arg Leu 475 480 470 465

His Ala His

<210> 9

<211> 1467

<212> DNA

<213> Ceratodon purpureus

<220>

<221> CDS

<222> (10)..(1461)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 9

ggatccaaa atg gcc ctc gtt acc gac ttt ctg aac ttt ctg ggc acg aca 51 Met Ala Leu Val Thr Asp Phe Leu Asn Phe Leu Gly Thr Thr 10 5 1

tgg agc aag tac agc gtg tac acc cat agc tat gct gga aac tat ggg Trp Ser Lys Tyr Ser Val Tyr Thr His Ser Tyr Ala Gly Asn Tyr Gly 30 25 20 15

ect act ttg aag cac gee aaa aag gtt tet get caa ggt aaa act geg Pro Thr Leu Lys His Ala Lys Lys Val Ser Ala Gln Gly Lys Thr Ala 45 35 40

gga cag aca ctg aga cag aga tcg gtg cag gac aaa aag cca ggc act Gly Gln Thr Leu Arg Gln Arg Ser Val Gln Asp Lys Lys Pro Gly Thr 60 55 50

tac	tct	ctg	gcc	gat	gtt	gct	tct	cac	gac	agg	cct	gga	gac	tgc	tgg	243
Tyr	Ser	Leu	Ala	Asp	Val	Ala	Ser	His	Asp	Arg	Pro	Gly	Asp	Cys	Trp	
		65					70					75				
atg	atc	gtc	aaa	gag	aag	gtg	tat	gat	att	agc	cgt	ttt	gcg	gac	gac	291
Met	Ile	Val	Lys	Glu	Lys	Val	Tyr	Asp	Ile	Ser	Arg	Phe	Ala	Asp	Asp	
	80					85					90					
cac	cct	gga	ggg	acg	gta	att	agc	acc	tac	ttt	aaa	cgg	gat	ggc	aca	339
His	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Ile	Ser	Thr	Tyr	Phe	Gly	Arg	Asp	Gly	Thr	
95					100					105					110	
						cat										387
Asp	Val	Phe	Ala	Thr	Phe	His	Pro	Pro	Ala	Ala	Trp	Lys	Gln	•	Asn	
				115					120					125		
						ctt										435
Asp	Tyr	Tyr	Ile	Gly	Asp	Leu	Ala		Glu	Glu	Pro	Leu		Glu	Leu	
			130					135					140			
																400
						atg										483
Leu	Lys	Asp	Tyr	Arg	Asp	Met		Ala	Glu	Phe	Val		Glu	Gly	Leu	
		145					150					155				
																531
						tgg										531
Phe		Ser	Ser	Lys	Ala	Trp	Phe	Leu	Leu	GIn		Leu	m	ASN	Ala	
	160					165					170					
											.			- 	+ 20	579
						att										313
		Phe	Ala	Ala		Ile	Ala	Thr	ire			Asp	гÃ2	261	191 190	
175					180					185					190	
											a+ a	++0	~+ a	C 2 2	C2C	627
						gcc										027
Trp	Ala	Ile	vai			Ala	Ser	reu	200	GIY	nea	FILE	Val	205	9111	
				195					200					200		
. •		L	عسي			gat	++~	~++	~ =+	~ = =	Cac	at c	+++	gag	aac	675
_	_														Asn	J.J
cys	GIY	TIP			nis	ASP	LIIC	215		GII	راندی ،		220			
			210					ددد					220			

cgt acc gcg aac tcc ttc ttt ggc tat ttg ttc ggc aat tgc gtg ctt Arg Thr Ala Asn Ser Phe Phe Gly Tyr Leu Phe Gly Asn Cys Val Leu ggc ttt agt gta tca tgg tgg agg acg aag cac aac att cat cat act Gly Phe Ser Val Ser Trp Trp Arg Thr Lys His Asn Ile His His Thr gct ccg aat gag tgc gac gaa cag tac aca cct cta gac gaa gac att Ala Pro Asn Glu Cys Asp Glu Gln Tyr Thr Pro Leu Asp Glu Asp Ile gat act ctc ccc atc att gcc tgg agc aag gaa att ttg gcc acc gtt Asp Thr Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Glu Ile Leu Ala Thr Val gag agc aag aga att ttg cga gtg ctt caa tat cag cac tac atg att Glu Ser Lys Arg Ile Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His Tyr Met Ile ctg cct cta ttg ttc atg gcc cgg tac agt tgg act ttt gga agt ttg Leu Pro Leu Leu Phe Met Ala Arg Tyr Ser Trp Thr Phe Gly Ser Leu ctc ttc aca ttc aat cct gat ttg agc acg acc aag gga ttg ata gag Leu Phe Thr Phe Asn Pro Asp Leu Ser Thr Thr Lys Gly Leu Ile Glu aag gga aca gtt gct ttt cac tac gcc tgg ttc agt tgg gct gcg ttc Lys Gly Thr Val Ala Phe His Tyr Ala Trp Phe Ser Trp Ala Ala Phe cat att ttg ccg ggt gtc gct aag cct ctt gcg tgg atg gta gca act His Ile Leu Pro Gly Val Ala Lys Pro Leu Ala Trp Met Val Ala Thr gag ctt gtg gcc ggt ttg ttg ttg gga ttc gtg ttt acg ttg agt cac Glu Leu Val Ala Gly Leu Leu Cly Phe Val Phe Thr Leu Ser His

WO 03/093482]	PCT/EP	03/04297
									:	24						
aat	gga	aag	gag	gtt	tac	aat	gaa	tcg	aag	gac	ttc	gtg	aga	gcc	cag	1203
Asn	Gly	Lys	Glu	Val	Tyr	Asn	Glu	Ser	Lys	Asp	Phe	Val	Arg	Ala	Gln	
		385					390					395				
att	att	acc	acc	cgt	aac	acc	aag	cga	ggc	tgg	ttc	aac	gat	tgg	ttc	1251
			Thr													
	400			_		405	_				410					
act	aaa	gga	ctc	gac	acc	caq	att	gag	cat	cac	ctg	ttt	cca	aca	atg	1299
			Leu													
415	0_1	0-1			420					425					430	
444																
CCC	agg	cac	aac	tac	ccc	aag	atc	σca	cct	cag	gtc	gag	gct	ctt	tgc	1347
			Asn													
PIO	ALG	1112	ASII	435	110	Lyc			440	4				445	•	
				433					110							
220	220	cac	ggc	ctc	gag	tac	gat	aat	atc	tcc	atc	att	ggt	gcc	tct	1395
			Gly													
пуз	пуэ	1113	450	Dea	<u> </u>	-3-	11010	455					460			
			400					100								
ata	aca	at t	gtg	220	מכמ	ctc	aacr	gaa	att	act	gat	gaa	aca	tca	att	1443
			Val													
AGI	Ala		Vai	цуs	nia	neu	470	914	110		пор	475				
		465					4/0					4/5				
			~at	636	+ > >	at o	~2.0									1467
			gct		Laa	gcc	yac									
Arg		HIS	Ala	HIS												
	480															
ימר	0> 1	0														
	0> 1 1> 4															
	1> 4 2> P:															
			~~~	<b>*</b>	nu ~~											
<21	3 C	erac	odon	pur.	hare	u >										

<400> 10
Met Ala Leu Val Thr Asp Phe Leu Asn Phe Leu Gly Thr Thr Trp Ser
1 5 10 15

Lys Tyr Ser Val Tyr Thr His Ser Tyr Ala Gly Asn Tyr Gly Pro Thr 20 25 30

Leu Lys His Ala Lys Lys Val Ser Ala Gln Gly Lys Thr Ala Gly Gln 

Thr Leu Arg Gln Arg Ser Val Gln Asp Lys Lys Pro Gly Thr Tyr Ser 

Leu Ala Asp Val Ala Ser His Asp Arg Pro Gly Asp Cys Trp Met Ile 

Val Lys Glu Lys Val Tyr Asp Ile Ser Arg Phe Ala Asp Asp His Pro 

Gly Gly Thr Val Ile Ser Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val 

Phe Ala Thr Phe His Pro Pro Ala Ala Trp Lys Gln Leu Asn Asp Tyr 

Tyr Ile Gly Asp Leu Ala Arg Glu Glu Pro Leu Asp Glu Leu Leu Lys 

Asp Tyr Arg Asp Met Arg Ala Glu Phe Val Arg Glu Gly Leu Phe Lys 

Ser Ser Lys Ala Trp Phe Leu Leu Gln Thr Leu Ile Asn Ala Ala Leu 

Phe Ala Ala Ser Ile Ala Thr Ile Cys Tyr Asp Lys Ser Tyr Trp Ala 

Ile Val Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe Val Gln Gln Cys Gly . 

Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His Gln Gln Val Phe Glu Asn Arg Thr 

Ala Asn Ser Phe Phe Gly Tyr Leu Phe Gly Asn Cys Val Leu Gly Phe 

Ser Val Ser Trp Trp Arg Thr Lys His Asn Ile His His Thr Ala Pro

Asn Glu Cys Asp Glu Gln Tyr Thr Pro Leu Asp Glu Asp Ile Asp Thr

Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Glu Ile Leu Ala Thr Val Glu Ser 275 280 285

Lys Arg Ile Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His Tyr Met Ile Leu Pro 290 295 300

Leu Leu Phe Met Ala Arg Tyr Ser Trp Thr Phe Gly Ser Leu Leu Phe 305 310 315 320

Thr Phe Asn Pro Asp Leu Ser Thr Thr Lys Gly Leu Ile Glu Lys Gly 325 330 335

Thr Val Ala Phe His Tyr Ala Trp Phe Ser Trp Ala Ala Phe His Ile 340 345 350

Leu Pro Gly Val Ala Lys Pro Leu Ala Trp Met Val Ala Thr Glu Leu 355 360 365

Val Ala Gly Leu Leu Gly Phe Val Phe Thr Leu Ser His Asn Gly 370 375 380

Lys Glu Val Tyr Asn Glu Ser Lys Asp Phe Val Arg Ala Gln Val Ile 385 390 395 , 400

Thr Thr Arg Asn Thr Lys Arg Gly Trp Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly 405 410 415

Gly Leu Asp Thr Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg
420 425 430

His Asn Tyr Pro Lys Ile Ala Pro Gln Val Glu Ala Leu Cys Lys Lys 435 440 445

His Gly Leu Glu Tyr Asp Asn Val Ser Val Val Gly Ala Ser Val Ala

WO 03/093482 PCT/EP03/04297 **27** 

450 455 460

Val Val Lys Ala Leu Lys Glu Ile Ala Asp Glu Ala Ser Ile Arg Leu 465 470 475 480

His Ala His

<210> 11

<211> 2160

<212> DNA

<213> Ceratodon purpureus

<220>.

<221> CDS

<222> (159)..(1721).

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 11

cggaggtctc ttgtcgttct tggagtctgt gtcgagcttg gaatgcggta ggcgcggccg 60

tttcgtggtt ttggcgttgg cattgcgcga gggcggacag tgggagtgcg ggaggtctgt 120

ttgtgcatga cgaggtggtt gtaatcttcg ccggcaga atg gtg tcc cag ggc ggc 176 Met Val Ser Gln Gly Gly

5

1

ggt ctc tcg cag ggt tcc att gaa gaa aac att gac gtt gag cac ttg 224
Gly Leu Ser Gln Gly Ser Ile Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Leu
10 15 20

gca acg atg ccc ctc gtc agt gac ttc cta aat gtc ctg gga acg act 272
Ala Thr Met Pro Leu Val Ser Asp Phe Leu Asn Val Leu Gly Thr Thr
25 30 35

ttg ggc cag tgg agt ctt tcc act aca ttc gct ttc aag agg ctc acg 320 Leu Gly Gln Trp Ser Leu Ser Thr Thr Phe Ala Phe Lys Arg Leu Thr 40 45 50

act aag aaa cac agt tog gac ato tog gtg gag gca caa aaa gaa tog 368

Thr Lys Lys His Ser Ser Asp Ile Ser Val Glu Ala Gln Lys Glu Ser gtt gcg cgg ggg cca gtt gag aat att tct caa tcg gtt gcg cag ccc Val Ala Arg Gly Pro Val Glu Asn Ile Ser Gln Ser Val Ala Gln Pro atc agg cgg agg tgg gtg cag gat aaa aag ccg gtt act tac agc ctg Ile Arg Arg Arg Trp Val Gln Asp Lys Lys Pro Val Thr Tyr Ser Leu aag gat gta gct tcg cac gat atg ccc cag gac tgc tgg att ata atc Lys Asp Val Ala Ser His Asp Met Pro Gln Asp Cys Trp Ile Ile Ile aaa gag aag gtg tat gat gtg agc acc ttc gct gag cag cac cct gga Lys Glu Lys Val Tyr Asp Val Ser Thr Phe Ala Glu Gln His Pro Gly ggc acg gtt atc aac acc tac ttc gga cga gac gcc aca gat gtt ttc Gly Thr Val Ile Asn Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Ala Thr Asp Val Phe tot act tto cac goa too acc toa tgg aag att ott cag aat tto tac Ser Thr Phe His Ala Ser Thr Ser Trp Lys Ile Leu Gln Asn Phe Tyr atc ggg aac ctt gtt agg gag gag ccg act ttg gag ctg ctg aag gag Ile Gly Asn Leu Val Arg Glu Glu Pro Thr Leu Glu Leu Leu Lys Glu tac aga gag ttg aga gcc ctt ttc ttg aga gaa cag ctt ttc aag agt Tyr Arg Glu Leu Arg Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser tcc aaa tcc tac tac ctt ttc aag act ctc ata aat gtt tcc att gtt Ser Lys Ser Tyr Tyr Leu Phe Lys Thr Leu Ile Asn Val Ser Ile Val gcc aca agc att gcg ata atc agt ctg tac aag tct tac cgg gcg gtt

										29						
Ala	Thr	Ser	Ile	Ala	Ile	Ile	Ser	Leu	Tyr	Lys	Ser	Tyr	Arg	Ala	Val	
:215					220					225					230	
ctg	tta	tca	gcc	agt	ttg	atg	ggc	ttg	ttt	att	caa	cag	tgc	gga	tgg	896
Leu	Leu	Ser	Ala	Ser	Leu	Met	Gly	Leu	Phe	Ile	Gln	Gln	Cys	Gly	Trp	
*				235					240		•			245		
tta	tct	cac	gat	ttt	cta	cac	cat	cag	gta	ttt	gag	aca	cgc	tgg	ctc	944
_	Ser															
	•		250					255					260			
aat	gac	att	att	aac	tat	ata	atc	aac	aac	att	gtt	ctg	gga	ttc	agt	992
	Asp															
ASH	nsp	265	V 4.1	013	-,-		270	U-1				275	2	•		
		203					2,0							•		
~+~	tcg	+~~	+~~		3.00	220	cac	220	cta	cat	cat	act	act	cca	aat	1040
-																2010
vaı	Ser	Trp	Trp	гÀг	THE		HIS	ASII	neu	птэ		AIG	AIG.	FIU	ASII	
	280					285					290					
																1000
_	tgc															1088
Glu	Cys	Asp	Gln	Lys	Tyr	Thr	Pro	Ile	Asp		Asp	Ile	Asp	Thr		•
295					300					305					310	
	atc															1136
Pro	Ile	Ile	Ala	Trp	Ser	Lys	Asp	Leu	Leu	Ala	Thr	Val	Glu	Ser	Lys	
				315					320					325		
acc	atg	ttg	cga	gtt	ctt	cag	tac	cag	cac	cta	ttc	ttt	ttg	gtt	ctt	1184
Thr	Met	Leu	Arg	Val	Leu	Gln	Tyr	Gln	His	Leu	Phe	Phe	Leu	Val	Leu	
			330					335					340			
ttg	acg	ttt	gcc	cgg	gcg	agt	tgg	cta	ttt	tgg	agc	gcg	gcc	ttc	act	1232
Leu	Thr	Phe	Ala	Arg	Ala	Ser	Trp	Leu	Phe	Trp	Ser	Ala	Ala	Phe	Thr	
		345					350					355				
ctc	agg	ccc	gag	ttg	acc	ctt	ggc	gag	aag	ctt	ttg	gag	agg	gga	acg	1280
Leu	Arg	Pro	Glu	Leu	Thr	Leu	Gly	Glu	Lys	Leu	Leu	Glu	Arg	Gly	Thr	
	360					365					370			•		
ato	gct	tta	cac	tac	att	tga	ttt	aat	agt	gtt	gca	ttt	tat	ctg	ctc	1328
5	ب د ر	- 3				ت ب			J -							

V	VO 03	3/0934	82							30				F	CT/EP	)3/04297
Met	Ala	Leu	His	Tyr	Ile	Trp	Phe	Asn	Ser	Val	Ala	Phe	Tyr	Leu	Leu	
375					380					385					390	
										,						
ccc	gga	tgg	aaa	cca	gtt	gta	tgg	atg	gtg	gtc	agc	gag	ctc	atg	tct	1376
Pro	Gly	Trp	Lys	Pro	Val	Val	Trp	Met	Val	Val	Ser	Glu	Leu	Met	Ser	
				395					400					405		
ggt																1424
Gly	Phe	Leu		Gly	Tyr	Val	Phe		Leu	Ser	Hıs	Asn		Met	Glu	
			410					415					420			
gtg					225	~~~	<b>+ + - -</b>	~+~	22 <b>t</b>	acc	cac	2++	ac a	tca	act	1472
gtg Val																14/2
vai	IYI	425	1 111	361	БyS	ASP.	430	var	11011	1114	02	435				
		100														
cac	gac	atc	aaa	gca	ggg	gtg	ttt	aat	gat	tgg	ttc	acc	gga	ggt	ctc	1520
Arg																
	440					445					450					
aac	aga	cag	att	gag	cat	cat	cta	ttt	cca	acg	atg	ccc	agg	cac	aac	1568
Asn	Arg	Gln	Ile	Glu	His	His	Leu	Phe	Pro	Thr	Met	Pro	Arg	His	Asn	
455					460					465					470	
											tgc					1616
Leu	Asn	Lys	Ile		Pro	His	Val	Glu		Leu	Cys	Lys	Lys		GIÀ	
				475					480					485		
at a	~+ ^	+ = 0	<b>~</b> 33	<b>~</b> 2.5	at a	200	at a	act	tca	ממכ	act	tac	caa	att	tta	1664
											Thr					2001
	<b>V</b> 41	-7-	490	1100				495		2		-4-	500			
								•								
aaa	aca	ctt	aag	gac	gtt	gcc	gat	gct	gct	tca	cac	cag	cag	ctt	gct	1712
Lys	Thr	Leu	Lys	Asp	Val	Ala	Asp	Ala	Ala	Ser	His	Gln	Gln	Leu	Ala	
		505					510					515				

tgttcatatg tgatcgaggg gaaaaggtcc catgctctga tctattcttc tgtagccaat 1821

1761

gcg agt tga ggcatcgcag cactcgtcga aacatttttg tctgttatag

Ala Ser

520

atttttcaat tgaaaggagg ttcctcactt atcttccatc tatcgttgca catcctgcat 1881 cagagttagc gttggagtaa tgttaagcac ttgtagatta tgcccaccat tgccacattt 1941 ctgttcggtt acaatcgttt gattccatgc tatcctccgt gttcatctcg ttgttataag 2001 caagettgaa aaaacatget acgagattgg cagacgttgt cttggcaget gtagaggttg 2061 gttccattca ttgtgtagta cagaactctc tcgtccctgt ttctctacat tacttgttac 2121 2160 atagtgactt tcattcacag caaaaaaaaa aaaaaaaaa

<210> 12

<211> 520

<212> PRT

<213> Ceratodon purpureus

<400> 12

Met Val Ser Gln Gly Gly Gly Leu Ser Gln Gly Ser Ile Glu Glu Asn 15 5 10 1

Ile Asp Val Glu His Leu Ala Thr Met Pro Leu Val Ser Asp Phe Leu 25 30 20

Asn Val Leu Gly Thr Thr Leu Gly Gln Trp Ser Leu Ser Thr Thr Phe 40 45 35

Ala Phe Lys Arg Leu Thr Thr Lys Lys His Ser Ser Asp Ile Ser Val 60 55 50

Glu Ala Gln Lys Glu Ser Val Ala Arg Gly Pro Val Glu Asn Ile Ser 75 70 65

Gln Ser Val Ala Gln Pro Ile Arg Arg Arg Trp Val Gln Asp Lys Lys 95 85 90

Pro Val Thr Tyr Ser Leu Lys Asp Val Ala Ser His Asp Met Pro Gln 105 110 100

Asp Cys Trp Ile Ile Ile Lys Glu Lys Val Tyr Asp Val Ser Thr Phe 115 120 125

Ala Glu Gln His Pro Gly Gly Thr Val Ile Asn Thr Tyr Phe Gly Arg 130 135 140

Asp Ala Thr Asp Val Phe Ser Thr Phe His Ala Ser Thr Ser Trp Lys

145 150 155 160

Ile Leu Gln Asn Phe Tyr Ile Gly Asn Leu Val Arg Glu Glu Pro Thr 165 170 175

Leu Glu Leu Lys Glu Tyr Arg Glu Leu Arg Ala Leu Phe Leu Arg
180 185 190

Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Ser Tyr Tyr Leu Phe Lys Thr Leu 195 200 205

Ile Asn Val Ser Ile Val Ala Thr Ser Ile Ala Ile Ile Ser Leu Tyr 210 215 220

Lys Ser Tyr Arg Ala Val Leu Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe 225 230 235 240

Ile Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe Leu His His Gln Val 245 250 255

Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Asp Val Val Gly Tyr Val Val Gly Asn 260 265 270

Val Val Leu Gly Phe Ser Val Ser Trp Trp Lys Thr Lys His Asn Leu 275 280 285

His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Lys Tyr Thr Pro Ile Asp 290 295 300

Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Asp Leu Leu 305 310 315 320

Ala Thr Val Glu Ser Lys Thr Met Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His 325 330 335

Leu Phe Phe Leu Val Leu Leu Thr Phe Ala Arg Ala Ser Trp Leu Phe 340 345 350

Trp Ser Ala Ala Phe Thr Leu Arg Pro Glu Leu Thr Leu Gly Glu Lys
355 360 365

Leu Leu Glu Arg Gly Thr Met Ala Leu His Tyr Ile Trp Phe Asn Ser 370 380

Val Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro Val Val Trp Met Val 385 390 395 400

Val Ser Glu Leu Met Ser Gly Phe Leu Leu Gly Tyr Val Phe Val Leu 405 410 415

Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Thr Ser Lys Asp Phe Val Asn 420 425 430

Ala Gln Ile Ala Ser Thr Arg Asp Ile Lys Ala Gly Val Phe Asn Asp
435
440
445

Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro 450 460

Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ser Pro His Val Glu Thr 465 470 475 480

Leu Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Met Ala Ser 485 490 495

Gly Thr Tyr Arg Val Leu Lys Thr Leu Lys Asp Val Ala Asp Ala Ala 500 505 510

Ser His Gln Gln Leu Ala Ala Ser 515 520 <210> 13

<211> 1434

<212> DNA

<213> Phaeodactylum tricornutum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1434)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 13

atg ggc aaa gga ggg gac gct cgg gcc tcg aag ggc tca acg gcg gct 48

Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Arg Ala Ser Lys Gly Ser Thr Ala Ala

1 5 10 15

cgc aag atc agt tgg cag gaa gtc aag acc cac gcg tct ccg gag gac 96
Arg Lys Ile Ser Trp Gln Glu Val Lys Thr His Ala Ser Pro Glu Asp
20 25 30

gcc tgg atc att cac tcc aat aag gtc tac gac gtg tcc aac tgg cac 144
Ala Trp Ile Ile His Ser Asn Lys Val Tyr Asp Val Ser Asn Trp His
35 40 45

gaa cat ccc gga ggc gcc gtc att ttc acg cac gcc ggt gac gac atg 192
Glu His Pro Gly Gly Ala Val Ile Phe Thr His Ala Gly Asp Asp Met
50 55 60

acg gac att ttc gct gcc ttt cac gca ccc gga tcg cag tcg ctc atg 240
Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala Pro Gly Ser Gln Ser Leu Met
65 70 75 80

aag aag ttc tac att ggc gaa ttg ctc ccg gaa acc acc ggc aag gag 288
Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Glu Leu Leu Pro Glu Thr Thr Gly Lys Glu
85 90 95

ccg cag caa atc gcc ttt gaa aag ggc tac cgc gat ctg cgc tcc aaa 336
Pro Gln Gln Ile Ala Phe Glu Lys Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ser Lys
100 105 110

ctc atc atg atg ggc atg ttc aag tcc aac aag tgg ttc tac gtc tac 384

Leu Ile Met Met Gly Met Phe Lys Ser Asn Lys Trp Phe Tyr Val Tyr

115 120 125

gga aca ttc ttt cag cag tcg gga tgg ttg gca cac gac ttt ctg cac 528 Gly Thr Phe Phe Gln Gln Ser Gly Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His 165 170 175

cac cag gtc ttc acc aag cgc aag cac ggg gat ctc gga gga ctc ttt 576

His Gln Val Phe Thr Lys Arg Lys His Gly Asp Leu Gly Gly Leu Phe

180 185 190

tgg ggg aac ctc atg cag ggt tac tcc gta cag tgg tgg aaa aac aag 624
Trp Gly Asn Leu Met Gln Gly Tyr Ser Val Gln Trp Trp Lys Asn Lys
195 200 205

cac aac gga cac cac gcc gtc ccc aac ctc cac tgc tcc tcc gca gtc 672

His Asn Gly His His Ala Val Pro Asn Leu His Cys Ser Ser Ala Val

210 215 220

gcg caa gat ggg gac ccg gac atc gat acc atg ccc ctt ctc gcc tgg 720
Ala Gln Asp Gly Asp Pro Asp Ile Asp Thr Met Pro Leu Leu Ala Trp
225 230 235 240

tcc gtc cag caa gcc cag tct tac cgg gaa ctc caa gcc gac gga aag 768 Ser Val Gln Gln Ala Gln Ser Tyr Arg Glu Leu Gln Ala Asp Gly Lys 245 250 255

gat tcg ggt ttg gtc aag ttc atg atc cgt aac caa tcc tac ttt tac 816
Asp Ser Gly Leu Val Lys Phe Met Ile Arg Asn Gln Ser Tyr Phe Tyr
260 265 270

ttt ccc atc ttg ttg ctc gcc cgc ctg tcg tgg ttg aac gag tcc ttc 864

Phe Pro Ile Leu Leu Leu Ala Arg Leu Ser Trp Leu Asn Glu Ser Phe aaq tqc qcc ttt qqq ctt gga gct gcg tcg gag aac gct gct ctc gaa Lys Cys Ala Phe Gly Leu Gly Ala Ala Ser Glu Asn Ala Ala Leu Glu ctc aag gcc aag ggt ctt cag tac ccc ctt ttg gaa aag gct ggc atc Leu Lys Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Pro Leu Leu Glu Lys Ala Gly Ile ctq ctq cac tac gct tgg atg ctt aca gtt tcg tcc ggc ttt gga cgc Leu Leu His Tyr Ala Trp Met Leu Thr Val Ser Ser Gly Phe Gly Arg ttc tcg ttc gcg tac acc gca ttt tac ttt cta acc gcg acc gcg tcc Phe Ser Phe Ala Tyr Thr Ala Phe Tyr Phe Leu Thr Ala Thr Ala Ser tgt gga ttc ttg ctc gcc att gtc ttt ggc ctc ggc cac aac ggc atg Cys Gly Phe Leu Leu Ala Ile Val Phe Gly Leu Gly His Asn Gly Met gcc acc tac aat gcc gac gcc cgt ccg gac ttc tgg aag ctc caa gtc Ala Thr Tyr Asn Ala Asp Ala Arg Pro Asp Phe Trp Lys Leu Gln Val acc acg act cgc aac gtc acg ggc gga cac ggt ttc ccc caa gcc ttt Thr Thr Thr Arg Asn Val Thr Gly Gly His Gly Phe Pro Gln Ala Phe gtc gac tgg ttc tgt ggt ggc ctc cag tac caa gtc gac cac cac tta Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln Tyr Gln Val Asp His His Leu ttc ccc agc ctg ccc cga cac aat ctg gcc aag aca cac gca ctg gtc Phe Pro Ser Leu Pro Arg His Asn Leu Ala Lys Thr His Ala Leu Val gaa tcg ttc tgc aag gag tgg ggt gtc cag tac cac gaa gcc gac ctt

Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val Gln Tyr His Glu Ala Asp Leu 435 440 445

gtg gac ggg acc atg gaa gtc ttg cac cat ttg ggc agc gtg gcc ggc 1392
Val Asp Gly Thr Met Glu Val Leu His His Leu Gly Ser Val Ala Gly
450 455 460

gaa ttc gtc gtg gat ttt gta cgc gat gga ccc gcc atg taa 1434
Glu Phe Val Val Asp Phe Val Arg Asp Gly Pro Ala Met
465 470 475

<210> 14

<211> 477

<212> PRT

<213> Phaeodactylum tricornutum

<400> 14

Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Arg Ala Ser Lys Gly Ser Thr Ala Ala 1 5 10 15

Arg Lys Ile Ser Trp Gln Glu Val Lys Thr His Ala Ser Pro Glu Asp 20 25 30

Ala Trp Ile Ile His Ser Asn Lys Val Tyr Asp Val Ser Asn Trp His
35 40 45

Glu His Pro Gly Gly Ala Val Ile Phe Thr His Ala Gly Asp Asp Met 50 55 60

Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala Pro Gly Ser Gln Ser Leu Met 65 70 75 80

Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Glu Leu Leu Pro Glu Thr Thr Gly Lys Glu 85 90 95

Pro Gln Gln Ile Ala Phe Glu Lys Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ser Lys
100 105 110

Leu Ile Met Met Gly Met Phe Lys Ser Asn Lys Trp Phe Tyr Val Tyr

115 120 125

Lys Cys Leu Ser Asn Met Ala Ile Trp Ala Ala Ala Cys Ala Leu Val 130 135 140

Phe Tyr Ser Asp Arg Phe Trp Val His Leu Ala Ser Ala Val Met Leu 145 150 155 160

Gly Thr Phe Phe Gln Gln Ser Gly Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His 165 170 175

His Gln Val Phe Thr Lys Arg Lys His Gly Asp Leu Gly Gly Leu Phe 180 185 190

Trp Gly Asn Leu Met Gln Gly Tyr Ser Val Gln Trp Trp Lys Asn Lys

195 200 205

His Asn Gly His His Ala Val Pro Asn Leu His Cys Ser Ser Ala Val 210 215 220

Ala Gln Asp Gly Asp Pro Asp Ile Asp Thr Met Pro Leu Leu Ala Trp
225 230 235 240

Ser Val Gln Gln Ala Gln Ser Tyr Arg Glu Leu Gln Ala Asp Gly Lys 245 250 255

Asp Ser Gly Leu Val Lys Phe Met Ile Arg Asn Gln Ser Tyr Phe Tyr 260 265 270

Phe Pro Ile Leu Leu Leu Ala Arg Leu Ser Trp Leu Asn Glu Ser Phe 275 280 285

Lys Cys Ala Phe Gly Leu Gly Ala Ala Ser Glu Asn Ala Ala Leu Glu 290 295 300

Leu Lys Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Pro Leu Leu Glu Lys Ala Gly Ile 305 310 315 320

Leu Leu His Tyr Ala Trp Met Leu Thr Val Ser Ser Gly Phe Gly Arg
325 330 335

WO 03/093482 PCT/EP03/04297

Phe Ser Phe Ala Tyr Thr Ala Phe Tyr Phe Leu Thr Ala Thr Ala Ser 340 345 350

Cys Gly Phe Leu Leu Ala Ile Val Phe Gly Leu Gly His Asn Gly Met 355 360 365

Ala Thr Tyr Asn Ala Asp Ala Arg Pro Asp Phe Trp Lys Leu Gln Val

Thr Thr Thr Arg Asn Val Thr Gly Gly His Gly Phe Pro Gln Ala Phe 385 390 395 400

Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln Tyr Gln Val Asp His His Leu
405 410 415

Phe Pro Ser Leu Pro Arg His Asn Leu Ala Lys Thr His Ala Leu Val 420 425 430

Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val Gln Tyr His Glu Ala Asp Leu 435 440 445

Val Asp Gly Thr Met Glu Val Leu His His Leu Gly Ser Val Ala Gly 450 455 460

Glu Phe Val Val Asp Phe Val Arg Asp Gly Pro Ala Met 465 470 475

<210> 15

<211> 1563

<212> DNA

<213> Ceratodon purpureus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1563)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 15

WO 03/093482 PCT/EP03/04297

atg gtg tcc cag ggc ggc ggt ctc tcg cag ggt tcc att gaa gaa aac Met Val Ser Gln Gly Gly Gly Leu Ser Gln Gly Ser Ile Glu Glu Asn att gac gtt gag cac ttg gca acg atg ccc ctc gtc agt gac ttc cta Ile Asp Val Glu His Leu Ala Thr Met Pro Leu Val Ser Asp Phe Leu aat gtc ctg gga acg act ttg ggc cag tgg agt ctt tcc act aca ttc Asn Val Leu Gly Thr Thr Leu Gly Gln Trp Ser Leu Ser Thr Thr Phe gct ttc aag agg ctc acg act aag aaa cac agt tcg gac atc tcg gtg Ala Phe Lys Arg Leu Thr Thr Lys Lys His Ser Ser Asp Ile Ser Val gag gca caa aaa gaa tog gtt gcg cgg ggg cca gtt gag aat att tot Glu Ala Gln Lys Glu Ser Val Ala Arg Gly Pro Val Glu Asn Ile Ser caa tcg gtt gcg cag ccc atc agg cgg agg tgg gtg cag gat aaa aag Gln Ser Val Ala Gln Pro Ile Arg Arg Arg Trp Val Gln Asp Lys Lys ccg gtt act tac agc ctg aag gat gta gct tcg cac gat atg ccc cag Pro Val Thr Tyr Ser Leu Lys Asp Val Ala Ser His Asp Met Pro Gln gac tgc tgg att ata atc aaa gag aag gtg tat gat gtg agc acc ttc Asp Cys Trp Ile Ile Ile Lys Glu Lys Val Tyr Asp Val Ser Thr Phe gct gag cag cac cct gga ggc acg gtt atc aac acc tac ttc gga cga Ala Glu Gln His Pro Gly Gly Thr Val Ile Asn Thr Tyr Phe Gly Arg gac gcc aca gat gtt ttc tct act ttc cac gca tcc acc tca tgg aag Asp Ala Thr Asp Val Phe Ser Thr Phe His Ala Ser Thr Ser Trp Lys 

									4	11						
att	ctt	cag	aat	ttc	tac	atc	ggg	aac	ctt	gtt	agg	gag	gag	ccg	act	528
						Ile										
				165					170					175		
		-														
tta	gag	cta	cta	aaq	gag	tac	aga	gag	ttg	aga	gcc	ctt	ttc	ttg	aga	576
_						Tyr										
Dea	024		180			-		185					190			
gaa	cag	ctt	ttc	aag	agt	tcc	aaa	tcc	tac	tac	ctt	ttc	aag	act	ctc	624
_						Ser										
01-		195		-			200		•			205				
ata	aat	att	tcc	att	gtt	gcc	aca	agc	att	gcg	ata	atc	agt	ctg	tac	672
						Ala										
	210					215					220					
aaσ	tct	tac	cgg	gcg	gtt	ctg	tta	tca	gcc	agt	ttg	atg	ggc	ttg	ttt	720
						Leu										
225	-	-			230					235					240	
													•			
att	caa	cag	tgc	gga	tgg	ttg	tct	cac	gat	ttt	cta	cac	cat	cag	gta	768
						Leu										
				245					250					255		
ttt	gag	aca	cgc	tgg	ctc	aat	gac	gtt	gtt	ggc	tat	gtg	gtc	ggc	aac	816
						Asn										
		-	260					265					270			
gtt	gtt	ctg	gga	ttc	agt	gtc	tcg	tgg	tgg	aag	acc	aag	cac	aac	ctg	864
Val	Val	Leu	Gly	Phe	Ser	Val	Ser	Trp	Trp	Lys	Thr	Lys	His	Asn	Leu	
		275					280					285				
cat	cat	gct	gct	ccg	aat	gaa	tgc	gac	caa	aag	tac	aca	ccg	att	gat	912
His	His	Ala	Ala	Pro	Asn	Glu	Cys	Asp	Gln	Lys	Tyr	Thr	Pro	Ile	Asp	
	290					295					300					
gag	gat	att	gat	act	cto	ccc	ato	att	gct	tgg	agt	aaa	gat	cto	ttg	960
Glu	Asp	Ile	Asp	Thr	Leu	Pro	Ile	Ile	Ala	Trp	Ser	Lys	Asp	Lev	Leu	
305					310	)				315	•				320	

										<b>4</b> &						
gcc	act	gtt	gag	agc	aag	acc	atg	ttg	cga	gtt	ctt	cag	tac	cag	cac	1008
Ala	Thr	Val	Glu	Ser	Lys	Thr	Met	Leu	Arg	Val	Leu	Gln	Tyr	Gln	His	
				325					330					335		
cta	ttc	ttt	tta	att	ctt	ttg	acg	ttt	gcc	cgg	gcg	agt	tgg	cta	ttt	1056
					Leu										•	
204			340					345		_			350			
			510													
-~~	200	~~~	<b>~</b>	++0	act	ctc	acc	CCC	пап	tta	acc	ctt	aac	σασ	aaq	1104
					Thr											
Trp	Ser		Ala	Pne	TILL	Deu		PIO	GIU	neu	1111	365	Gry	GIU	БyЗ	
		355					360					363				
														+		1152
					acg											1152
Leu		Glu	Arg	Gly	Thr		Ala	Leu	Hıs	Tyr		Trp	Pne	Asn	ser	
	370					375					380					
gtt	gcg	ttt	tat	ctg	ctc	ccc	gga	tgg	aaa	cca	gtt	gta	tgg	atg	gtg	1200
Val	Ala	Phe	Tyr	Leu	Leu	Pro	Gly	Trp	Lys	Pro	Val	Val	Trp	Met	Val	
385					390					395					400	
gtc	agc	gag	ctc	atg	tct	ggt	ttc	ctg	ctg	gga	tac	gta	ttt	gta	ctc	1248
Val	Ser	Glu	Leu	Met	Ser	Gly	Phe	Leu	Leu	Gly	Tyr	Val	Phe	Val	Leu	
				405					410					415		
agt	cac	aat	gga	atg	gag	gtg	tac	aat	acg	tca	aag	gac	ttc	gtg	aat	1296
					Glu											
			420				-	425			_	_	430			
acc	cac	att	aca	tca	act	cac	gac	atc	aaa	gca	aaa	ata	ttt	aat	gat	1344
_	_				Thr											
MIG	GIII		AIG	Ser	1111	Arg	440	116	Lys	AIG	GIY	445	1110	11011	1105	
		435					440					447				
																1202
					ctc											1392
Trp		Thr	Gly	Gly	Leu		Arg	Gln	Ile	Glu		His	Leu	Pne	Pro	
	450					455					460					
	_				aac											1440
Thr	Met	Pro	Arg	His	Asn	Leu	Asn	Lys	Ile	Ser	Pro	His	Val	Glu	Thr	
465					470					475					480	

WO 03/093482		43	PCT/EP03/04297
ttg tgc aag aag	cat gga ctg gtc	tac gaa gac gtg agc	atg gct tcg 1488
-		Tyr Glu Asp Val Ser	
	485	490	495
ggc act tac cgg	gtt ttg aaa aca	ctt aag gac gtt gcc	gat gct gct 1536
Gly Thr Tyr Arg	Val Leu Lys Thr	Leu Lys Asp Val Ala	Asp Ala Ala
500		505	510
	ctt gct gcg agt	tga	1563
	Leu Ala Ala Ser		
515	520		
210- 16		•	•
<210> 16 <211> 520			•
<211> 520 <212> PRT			
<213> Ceratodon	purpureus		
1225 002400401	Par Par		
<400> 16			
Met Val Ser Gln	Gly Gly Gly Leu	Ser Gln Gly Ser Ile	Glu Glu Asn
1	5	10	15
Ile Asp Val Glu	His Leu Ala Thr	Met Pro Leu Val Ser	Asp Phe Leu
20		25	30
•		•	
Asn Val Leu Gly	Thr Thr Leu Gly	Gln Trp Ser Leu Ser	Thr Thr Phe

Ala Phe Lys Arg Leu Thr Thr Lys Lys His Ser Ser Asp Ile Ser Val

Glu Ala Gln Lys Glu Ser Val Ala Arg Gly Pro Val Glu Asn Ile Ser

Gln Ser Val Ala Gln Pro Ile Arg Arg Arg Trp Val Gln Asp Lys Lys

Pro Val Thr Tyr Ser Leu Lys Asp Val Ala Ser His Asp Met Pro Gln

Asp Cys Trp Ile Ile Ile Lys Glu Lys Val Tyr Asp Val Ser Thr Phe 115 120 125

Ala Glu Gln His Pro Gly Gly Thr Val Ile Asn Thr Tyr Phe Gly Arg 130 135 140

Asp Ala Thr Asp Val Phe Ser Thr Phe His Ala Ser Thr Ser Trp Lys 145 150 155 160

Ile Leu Gln Asn Phe Tyr Ile Gly Asn Leu Val Arg Glu Glu Pro Thr 165 170 175

Leu Glu Leu Leu Lys Glu Tyr Arg Glu Leu Arg Ala Leu Phe Leu Arg 180 185 190

Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Ser Tyr Tyr Leu Phe Lys Thr Leu 195 200 205

Ile Asn Val Ser Ile Val Ala Thr Ser Ile Ala Ile Ile Ser Leu Tyr 210 215 220

Lys Ser Tyr Arg Ala Val Leu Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe 225 230 235 240

Ile Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe Leu His His Gln Val 245 250 255

Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Asp Val Val Gly Tyr Val Val Gly Asn 260 265 270

Val Val Leu Gly Phe Ser Val Ser Trp Trp Lys Thr Lys His Asn Leu 275 280 285

His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Lys Tyr Thr Pro Ile Asp 290 295 300

Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Asp Leu Leu 305 310 315 320

Ala Thr Val Glu Ser Lys Thr Met Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His

. 335

.**45** 325 .330

Leu Phe Phe Leu Val Leu Leu Thr Phe Ala Arg Ala Ser Trp Leu Phe 340 345 350

Trp Ser Ala Ala Phe Thr Leu Arg Pro Glu Leu Thr Leu Gly Glu Lys 355 360 365

Leu Leu Glu Arg Gly Thr Met Ala Leu His Tyr Ile Trp Phe Asn Ser 370 380

Val Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro Val Val Trp Met Val 385 390 395 400

Val Ser Glu Leu Met Ser Gly Phe Leu Leu Gly Tyr Val Phe Val Leu 405 410 415

Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Thr Ser Lys Asp Phe Val Asn 420 425 430

Ala Gln Ile Ala Ser Thr Arg Asp Ile Lys Ala Gly Val Phe Asn Asp
435
440
445

Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro 450 455 460

Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ser Pro His Val Glu Thr 465 470 475 480

Leu Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Met Ala Ser 485 490 495

Gly Thr Tyr Arg Val Leu Lys Thr Leu Lys Asp Val Ala Asp Ala Ala 500 505 510

Ser His Gln Gln Leu Ala Ala Ser 515 520

<211> 1578

<212> DNA

<213> Physcomitrella patens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1578)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 17

atg gta ttc gcg ggc ggt gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac 48
Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn
1 5 10 15

atc gac gtc gag cac att gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc 96

Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe

20 25 30

agt tat gtg tct tca act gtt ggt tcg tgg agc gta cac agt ata caa 144
Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln
35 40 45

cct ttg aag cgc ctg acg agt aag aag cgt gtt tcg gaa agc gct gcc 192
Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala
50 55 60

gtg caa tgt ata tca gct gaa gtt cag aga aat tcg agt acc cag gga 240
Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly
65 70 75 80

act gcg gag gca ctc gca gaa tca gtc gtg aag ccc acg aga cga agg 288
Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg 85 90 95

tca tct cag tgg aag aag tcg aca cac ccc cta tca gaa gta gca gta 336 Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val

cac aac aag cca agc gat tgc tgg att gtt gta aaa aac aag gtg tat 384 His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr 115 120 125

gat	gtt	tcc	aat	ttt	gcg	gac	gag	cat	ccc	gga	gga	tca	gtt	att	agt	432
Asp	Val	Ser	Asn	Phe	Ala	Asp	Glu	His	Pro	Gly	Gly	Ser	Val	Ile	Ser	
	130					135					140					
											tct					480
Thr	Tyr	Phe	Gly	Arg	Asp	Gly	Thr	Asp	Val	Phe	Ser	Ser	Phe	His		
145					150					155					160	
_											att					528
Ala	Ser	Thr	Trp	Lys	Ile	Leu	Gln	Asp		Tyr	Ile	Gly	Asp		Glu	
				165					170					175		
													<b>~</b>		202	576
											ttc					570
Arg	Val	Glu		Thr	Pro	Glu	Leu		гуs	ASP	Phe	Arg	190	Mec	ALG	
			180					185					190			
			a+~	200	~3~	<b>C33</b>	c++	ttc	222	art	tcg	aaa	ttα	tac	tat	624
											Ser					
AIA	Leu	195	Dea	Arg	GIU	GIII	200	1110	2,0	DCI	001	205		-,-	-4-	•
		193					200			•						
att	ato	aaσ	cta	ctc	acq	aat	att	act	att	ttt	gct	gcg	agc	att	gca	672
											Ala					
vul	210					215					220					
ata	ata	tgt	tgg	agc	aag	act	att	tca	gcg	gtt	ttg	gct	tca	gct	tgt	720
Ile	Ile	Cys	Trp	Ser	Lys	Thr	Ile	Ser	Ala	Val	Leu	Ala	Ser	Ala	Cys	
225					230					235					240	
atg	atg	gct	ctg	tgt	ttc	caa	cag	tgc	gga	tgg	cta	tcc	cat	gat	ttt	768
Met	Met	Ala	Leu	Cys	Phe	Gln	Gln	Cys	Gly	Trp	Leu	Ser	His	Asp	Phe	
				245					250					255		
											aat					816
Leu	His	Asn	Gln	Val	Phe	Glu	Thr	Arg	Trp	Leu	Asn	Glu		Val	Gly	-
			260					265					270			
																0.54
	-										aca					864
Tyr	Val	Ile	Gly	Asn	Ala	Val	Leu	Gly	Phe	Ser	Thr	Gly	Trp	ı,rp	гуѕ	

275 280 285 ·

gag	aag	cat	aac	ctt	cat	cat	gct	gct	cca	aat	gaa	tgc	gat	cag	act	912
Glu	Lys	His	Asn	Leu	His	His	Ala	Ala	Pro	Asn	Glu	Cys	Asp	Gln	Thr	
	290					295					300					
tac	caa	cca	att	gat	gaa	gat	att	gat	act	ctc	ccc	ctc	att	gcc	tgg	960
Tyr	Gln	Pro	Ile	Asp	Glu	Asp	Ile	Asp	Thr	Leu	Pro	Leu	Ile	Ala	Trp	
305					310					315					320	
agc	aag	gac	ata	ctg	gcc	aca	gtt	gag	aat	aag	aca	ttc	ttg	cga	atc	1008
Ser	Lys	Asp	Ile		Ala	Thr	Val	Glu		Lys	Thr	Phe	Leu		Ile	
				325					330					335		
																1056
	caa															1056
Leu	Gln	туr		His	Leu	Pne	Pne		GIY	Leu	Leu	Pne		Ala	Arg	
			340					345					350			
aat	agt	taa	ctc	+++	taa	200	taa	202	+=+	200	tot	202	aca.	ata	ctc	1104
	Ser					_										1104
GIĀ	261	355	Dea	FILE	πp	Ser	360	Arg	171	1111	Der	365	nia	Val	neu	
		222					300					505				
tca	cct	atc	σac	agg	tta	tta	gag	aaq	σσa	act	att	cta	ttt	cac	tac	1152
	Pro	_	_		_	_	-							_		
	370		•	J		375		-	•		380				-	
ttt	tgg	ttc	gtc	ggg	aca	gcg	tgc	tat	ctt	ctc	cct	ggt	tgg	aag	cca	1200
Phe	Trp	Phe	Val	Gly	Thr	Ala	Cys	Tyr	Leu	Leu	Pro	Gly	Trp	Lys	Pro	
385					390					395					400	
tta	gta	tgg	atg	gcg	gtg	act	gag	ctc	atg	tcc	ggc	atg	ctg	ctg	ggc	1248
Leu	Val	Trp	Met	Ala	Val	Thr	Glu	Leu	Met	Ser	Gly	Met	Leu	Leu	Gly	
				405			•		410					415		
	gta		-													1296
Phe	Val	Phe		Leu	Ser	His	Asn	Gly	Met	Glu	Val	Tyr	Asn	Ser	Ser	
			420					425					430			
												4	_4 -			1244
	gaa															1344
rys	Glu	rne	val	ser	ALA	GIN	TTE	val	ser	Thr	arg	Asp	тте	ьys	GTÀ	

435 440 445 .

aac ata ttc aac gac tgg ttc act ggt ggc ctt aac agg caa ata gag Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu 460 455 450 cat cat ctt ttc cca aca atg ccc agg cat aat tta aac aaa ata gca His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala 475 480 470 465 cct aga gtg gag gtg ttc tgt aag aaa cac ggt ctg gtg tac gaa gac 1488 Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp 495 485 490 gta tot att got acc ggc act tgc aag gtt ttg aaa gca ttg aag gaa 1536 Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu 510 505 500

The graph of the g

<210> 18

<211> 525

<212> PRT

<213> Physcomitrella patens

<400> 18

Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn
1 5 10 15

Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe 20 25 30

Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln 35 40 45

Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala 50 55 60

Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly 

WO 03/093482

Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg 

Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val 

His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr 

Asp Val Ser Asn Phe Ala Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser 

Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala 

Ala Ser Thr Trp Lys Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu 

Arg Val Glu Pro Thr Pro Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg 

Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr 

Val Met Lys Leu Leu Thr Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala 

Ile Ile Cys Trp Ser Lys Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys 

Met Met Ala Leu Cys Phe Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe 

Leu His Asn Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly 

Tyr Val Ile Gly Asn Ala Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys

Glu Lys His Asn Leu His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr 

Tyr Gln Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp 

Ser Lys Asp Ile Leu Ala Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile 

Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg 

Gly Ser Trp Leu Phe Trp Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu 

Ser Pro Val Asp Arg Leu Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr 

Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro 

Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly 

Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser 

Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly 

Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu 

His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala 

Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp

485 490 . 495

Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu
500 505 510

Val Ala Glu Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser 515 520 525

<210> 19

<211> 837

<212> DNA

<213> Phytophthora infestans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(837)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 19

atg tcg act gag cta ctg cag agc tac tac gcg tgg gcc aac gcc acg 48

Met Ser Thr Glu Leu Gln Ser Tyr Tyr Ala Trp Ala Asn Ala Thr

1 5 10 15

gag gcc aag ctg ctg gac tgg gtc gac cct gag ggc ggc tgg aag gtg 96
Glu Ala Lys Leu Leu Asp Trp Val Asp Pro Glu Gly Gly Trp Lys Val
20 25 30

cat cct atg gca gac tac ccc cta gcc aac ttc tcc agc gtc tac gcc 144

His Pro Met Ala Asp Tyr Pro Leu Ala Asn Phe Ser Ser Val Tyr Ala

35 40 45

atc tgc gtc gga tac ttg ctc ttc gta atc ttc ggc acg gcc ctg atg 192

Ile Cys Val Gly Tyr Leu Leu Phe Val Ile Phe Gly Thr Ala Leu Met

50 55 60

aaa atg gga gtc ccc gcc atc aag acc agt cca tta cag ttt gtg tac 240
Lys Met Gly Val Pro Ala Ile Lys Thr Ser Pro Leu Gln Phe Val Tyr
65 70 75 80

WO 03/093482 PCT/EP03/04297 **53** 

									,	53						
aac	ccc	atc	caa	gtc	att	gcc	tgc	tct	tat	atg	tgc	gtg	gag	gcc	gcc	288
Asn	Pro	Ile	Gln	Val	Ile	Ala	Cys	Ser	Tyr	Met	Cys	Val	Glu	Ala	Ala	
				85					90					95		
atc	cag	gcc	tac	cgc	aac	ggc	tac	acc	gcc	gcc	ccg	tgc	aac	gcc	ttt	336
										Ala						
			100					105					110			
aag	tcc	gac	gac	ccc	gtc	atg	ggc	aac	gtt	ctg	tac	ctc	ttc	tat	ctc	384
										Leu						
בינב		115					120					125				
tcc	ааσ	ato	ctc	gac	cta	tac	gac	aca	gtc	ttc	att	atc	cta	gga	aag	432
										Phe						
Dex	130	1100				135					140			٠		
	130															
224	taa	222	cac	ctt	tcc	atc	ttα	cac	ata	tac	cac	cac	ctt	acc	gtg	480
										Tyr						
	тър	гу	GIII	nea	150	110	Dea	1110	•	155					160	
145					100					233	-					
		~+~	<b>t</b> = 0	<b>+</b> > <b>+</b>	ata	200	++~	cac	acc	gct	cag	gac	aaa	gac	tca	528
										Ala						
ren	Pne	Val	туг		vaı	IIII	rne	Arg	170	ALG	0111	2101	017	175		
				165					170					_,_		
							~~~	++0	at a	cac	200	atc	ato	tac	act	576
																5.0
Tyr	Ala	Thr		vai	Leu	ASII		185		His	1111	110	190	111	****	
			180					100					190			
										~ • •		+~~	224	220	tac	624
										att						ULI
Tyr	Tyr		Val	Ser	Ala	His		Arg	ASII	Ile	тър		пуѕ	БУЗ	ıyı	
		195					200					205				
																672
										.acc						072
Leu		Arg	Ile	Gln	Leu		Gln	Phe	Val	Thr		Asn	vai	GIN	GIĀ	
	210					215					220					
												_				700
															ccg	720
Tyr	Leu	Thr	Tyr	Ser	Arg	Gln	Cys	Pro	Gly	Met		Pro	Lys	val		
225					230			•		235					240	

)										
•	VO 0	3/0934	182							E 4]	PCT/EP0	3/04297
								.		54	.		++-	~+~		760
															aat	768
Leu	Met	тут	Leu		туr	Val	Gin	Ser		Pne	Trp	rea	Pne		ASII	
				245					250					255		
++-	*		~~~			~+~	++0	~~~	000	330		CC4	~~~	ata	~2~	816
ttc Phe																810
PHE	IYL	TTE	260	AIG	IYI	vai	FIIC	265	FIU	Lys	шуз	110	270	VUI	GIU	
			200					203					270			
gaa	tca	aag	aac	aag	tta	taa										837
Glu	_															
014	JU1	275		2,2												
<210	> 20)														
<211	> 27	78												•		
<212	> PI	RТ														
<213	> Pł	iytor	htho	ora i	infes	stans	5									
<400	> 20)														
Met	Ser	Thr	Glu	Leu	Leu	Gln	Ser	Tyr	Tyr	Ala	Trp	Ala	Asn	Ala	Thr	
1				5					10					15		
Glu	Ala	Lys	Leu	Leu	Asp	Trp	Val	Asp	Pro	Glu	Gly	Gly	Trp	Lys	Val	
			. 20					25					30			
His	Pro	Met	Ala	Asp	Tyr	Pro	Leu	Ala	Asn	Phe	Ser	Ser	Val	Tyr	Ala	
		35					40					45				
Ile	Cys	Val	Gly	Tyr	Leu	Leu	Phe	Val	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Leu	Met	
	50					55					60					
Lys	Met	Gly	Val	Pro	Ala	Ile	Lys	Thr	Ser	Pro	Leu	Gln	Phe	Val	Tyr	

Asn Pro Ile Gln Val Ile Ala Cys Ser Tyr Met Cys Val Glu Ala Ala

Ile Gln Ala Tyr Arg Asn Gly Tyr Thr Ala Ala Pro Cys Asn Ala Phe

55

Lys Ser Asp Asp Pro Val Met Gly Asn Val Leu Tyr Leu Phe Tyr Leu
115 120 125

Ser Lys Met Leu Asp Leu Cys Asp Thr Val Phe Ile Ile Leu Gly Lys 130 135 140

Leu Phe Val Tyr Tyr Val Thr Phe Arg Ala Ala Gln Asp Gly Asp Ser 165 170 175

Tyr Ala Thr Ile Val Leu Asn Gly Phe Val His Thr Ile Met Tyr Thr
180 185 190

Tyr Tyr Phe Val Ser Ala His Thr Arg Asn Ile Trp Trp Lys Lys Tyr 195 200 205

Leu Thr Arg Ile Gln Leu Ile Gln Phe Val Thr Met Asn Val Gln Gly 210 215 220

Tyr Leu Thr Tyr Ser Arg Gln Cys Pro Gly Met Pro Pro Lys Val Pro 225 230 235 240

Leu Met Tyr Leu Val Tyr Val Gln Ser Leu Phe Trp Leu Phe Met Asn 245 250 255

Phe Tyr Ile Arg Ala Tyr Val Phe Gly Pro Lys Lys Pro Ala Val Glu 260 265 270

Glu Ser Lys Lys Leu 275

<210> 21

<211> 1410

<212> DNA

<213> Phaeodactylum tricornutum

<221> CDS

<222> (1)..(1410)

<223> Delta-5-Desaturase

<400> 21

atg gct ccg gat gcg gat aag ctt cga caa cgc cag acg act gcg gta 48

Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val

1 5 10 15

gcg aag cac aat gct gct acc ata tcg acg cag gaa cgc ctt tgc agt 96
Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser
20 25 30

ctg tct tcg ctc aaa ggc gaa gaa gtc tgc atc gac gga atc atc tat 144
Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr
35 40 45

gac ctc caa tca ttc gat cat ccc ggg ggt gaa acg atc aaa atg ttt 192
Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro Gly Gly Glu Thr Ile Lys Met Phe
50 55 60

ggt ggc aac gat gtc act gta cag tac aag atg att cac ccg tac cat 240 Gly Gly Asn Asp Val Thr Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His 65 70 75 80

acc gag aag cat ttg gaa aag atg aag cgt gtc ggc aag gtg acg gat 288

Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp

85 90 95

ttc gtc tgc gag tac aag ttc gat acc gaa ttt gaa cgc gaa atc aaa 336
Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys
100 105 110

cga gaa gtc ttc aag att gtg cga cga ggc aag gat ttc ggt act ttg 384
Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu
115 120 125

gga tgg ttc ttc cgt gcg ttt tgc tac att gcc att ttc ttc tac ctg 432
Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu
130 135 140

cag	tac	cat	tgg	gtc	acc	acg	gga	acc	tct	tgg	ctg	ctg	gcc	gtg	gcc	480
Gln	Tyr	His	Trp	Val	Thr	Thr	Gly	Thr	Ser	Trp	Leu	Leu	Ala	Val	Ala	
145					150					155					160	
tac	gga	atc	tcc	caa	gcg	atg	att	ggc	atg	aat	gtc	cag	cac	gat	gcc	528
Tyr	Gly	Ile	Ser	Gln	Ala	Met	Ile	Gly	Met	Asn	Val	Gln	His	Asp	Ala	
-				165					170					175		
																•
aac	cac	ggg	gcc	acc	tcc	aag	cgt	ccc	tgg	gtc	aac	gac	atg	cta	ggc	576
Asn	His	Gly	Ala	Thr	Ser	Lys	Arg	Pro	Trp	Val	Asn	Asp	Met	Leu	Gly	
			180					185					190	•		
ctc	ggt	gcg	gat	ttt	att	ggt	ggt	tcc	aag	tgg	ctc	tgg	cag	gaa	caa	624
Leu	Gly	Ala	Asp	Phe	Ile	Gly	Gly	Ser	Lys	Trp	Leu	Trp	Gln	Glu	Gln	
		195					200					205				
cac	tgg	acc	cac	cac	gct	tac	acc	aat	cac	gcc	gag	atg	gat	ccc	gat	672
His	Trp	Thr	His	His	Ala	Tyr	Thr	Asn	His	Ala	Glu	Met	Asp	Pro	Asp	
	210					215					220					
						-				•						
agc	ttt	ggt	gcc	gaa	cca	atg	ctc	cta	ttc	aac	gac	tat	ccc	ttg	gat	720
_						Met										
225					230					235					240	
				-												
cat	ccc	gct	cgt	acc	tgg	cta	cat	cgc	ttt	caa	gca	ttc	ttt	tac	atg	768
His	Pro	Ala	Arg	Thr	Trp	Leu	His	Arg	Phe	Gln	Ala	Phe	Phe	Tyr	Met	
				245					250					255		
																•
ccc	gtc	ttg	gct	gga	tac	tgg	ttg	tcc	gct	gtc	ttc	aat	cca	caa	att	816
						Trp										
			260	_	_	_		265					270			
									•							
ctt	gac	ctc	cag	caa	cgc	ggc	gca	ctt	tcc	gtc	ggt	atc	cgt	ctc	gac	864
						Gly										
		275			- 4		280				-	285	_			
aac	act	ttc	att	cac	tca	cga	cac	aaa	tat	qca	gtt	ttc	taa	cgg	gct	912
	_					Arg										
- +-211	290	- 110				295	3	- <u>,</u> -	- 2 -		300			ے		
	230					درد					200					

													•			
gtg	tac	att	gcg	gtg	aac	gtg	att	gct	ccg	ttt	tac	aca	aac	tcc	ggc	960
Val	Tyr	Ile	Ala	Val	Asn	Val	Ile	Ala	Pro	Phe	Tyr	Thr	Asn	Ser	Gly	
305					310					315					320	
ctc	gaa	tgg	tcc	tgg	cgt	gtc	ttt	gga	aac	atc	atg	ctc	atg	ggt	gtg	1008
Leu	Glu	Trp	Ser	Trp	Arg	Val	Phe	Gly	Asn	Ile	Met	Leu	Met	Gly	Val	
				325					330					335		
gcg	gaa	tcg	ctc	gcg	ctg	gcg	gtc	ctg	ttt	tcg	ttg	tcg	cac	aat	ttc	1056
	Glu															
			340					345					350			
gaa	tcc	gcg	gat	cgc	gat	ccg	acc	gcc	cca	ctg	aaa	aag	acg	gga	gaa	1104
Glu	Ser	Ala	Asp	Arg	Asp	Pro	Thr	Ala	Pro	Leu	Lys	Lys	Thr	Gly	Glu	
		355					360					365				
cca	gtc	gac	tgg	ttc	aag	aca	cag	gtc	gaa	act	tcc	tgc	act	tac	ggt	1152
Pro	Val	Asp	Trp	Phe	Lys	Thr	Gln	Val	Glu	Thr	Ser	Cys	Thr	Tyr	Gly	
	370					375					380					
gga	ttc	ctt	tcc	ggt	tgc	ttc	acg	gga	ggt	ctc	aac	ttt	cag	gtt	gaa	1200
Gly	Phe	Leu	Ser	Gly	Cys	Phe	Thr	Gly	Gly	Leu	Asn	Phe	Gln	Val	Glu	
385					390					395					400	
cac	cac	ttg	ttc	cca	cgc	atg	agc	agc	gct	tgg	tat	ccc	tac	att	gcc	1248
His	His	Leu	Phe	Pro	Arg	Met	Ser	Ser	Ala	Trp	Tyr	Pro	Tyr	Ile	Ala	
				405					410					415		
ccc	aag	gtc	cgc	gaa	att	tgc	gcc	aaa	cac	ggc	gtc	cac	tac	gcc	tac	1296
Pro	Lys	Val	Arg	Glu	Ile	Cys	Ala	Lys	His	Gly	Val	His	Tyr	Ala	Tyr	
			420					425					430			
														•		
tac	ccg	tgg	atc	cac	caa	aac	ttt	ctc	tcc	acc	gtc	cgc	tac	atg	cac	1344
Tyr	Pro	Trp	Ile	His	Gln	Asn	Phe	Leu	Ser	Thr	Val	Arg	Tyr	Met	His	
		435					440					445				
gcg	gcc	ggg	acc	ggt	gcc	aac	tgg	cgc	cag	atg	gcc	aga	gaa	aat	ccc	1392
Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Ala	Asn	Trp	Arg	Gln	Met	Ala	Arg	Glu	Asn	Pro	
	450					455					460					

WO 03/093482

59

ttg acc gga cgg gcg taa Leu Thr Gly Arg Ala 465 470 1410

PCT/EP03/04297

<210> 22

<211> 469

<212> PRT

<213> Phaeodactylum tricornutum

<400> 22

Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val

Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser 20 25 30

Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr
35 40 45

Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro Gly Gly Glu Thr Ile Lys Met Phe
50 55 60

Gly Gly Asn Asp Val Thr Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His
65 70 75 80

Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp

85 90 95

Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu 115 120 125

Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu 130 135 140

Gln Tyr His Trp Val Thr Thr Gly Thr Ser Trp Leu Leu Ala Val Ala

•	WO 03	3/0934	82							60				P	CT/E
145					150					155					160
Tyr	Gly	Ile	Ser	Gln 165	Ala	Met	Ile	Gly	Met 170	Asn	Val	Gln	His	Asp 175	Ala
Asn	His	Gly	Ala 180	Thr	Ser	Lys	Arg	Pro 185	Trp	Val	Asn	Asp	Met 190	Leu	Gly
Leu	Gly	Ala 195	Asp	Phe	Ile	Gly	Gly 200	Ser	Lys	Trp	Leu	Trp 205	Gln	Glu	Gln
His	Trp 210	Thr	His	His	Ala	Tyr 215	Thr	Asn	His	Ala	Glu 220	Met	Asp	Pro	Asp
Ser 225	Phe	Gly	Ala	Glu	Pro 230	Met	Leu	Leu	Phe	Asn 235	Asp	Tyr	Pro	Leu	Asp 240
His	Pro	Ala	Arg	Thr 245	Trp	Leu	His	Arg	Phe 250	Gln	Ala	Phe	Phe	Tyr 255	Met
Pro	Val	Leu	Ala 260	Gly	Tyr	Trp	Leu	Ser 265	Ala	Val	Phe	Asn	Pro 270	Gln	Ile
Leu	Asp	Leu 275	Gln	Gln	Arg	Gly	Ala 280	Leu	Ser	Val	Gly	Ile 285	Arg	Leu	Asp
Asn	Ala 290	Phe	Ile	His	Ser	Arg 295	Arg	Lys	Tyr	Ala	Val 300	Phe	Trp	Arg	Ala
Val 305	Tyr	Ile	Ala	Val	Asn 310	Val	Ile	Ala	Pro	Phe 315	Tyr	Thr	Asn	Ser	Gly 320
Leu	Glu	Trp	Ser	Trp 325	Arg	Val	Phe	Gly	Asn 330	Ile	Met	Leu	Met	Gly 335	Val
Ala	Glu	Ser	Leu 340	Ala	Leu	Ala	Val	Leu 345	Phe	Ser	Leu	Ser	His 350	Asn	Phe

Glu Ser Ala Asp Arg Asp Pro Thr Ala Pro Leu Lys Lys Thr Gly Glu

365

360

355

Pro Val Asp Trp Phe Lys Thr Gln Val Glu Thr Ser Cys Thr Tyr Gly 380 37:5 370

Gly Phe Leu Ser Gly Cys Phe Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu 400 390 385

His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala 410 415 405

Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Ala Lys His Gly Val His Tyr Ala Tyr 430 425 420

Tyr Pro Trp Ile His Gln Asn Phe Leu Ser Thr Val Arg Tyr Met His 440 435

Ala Ala Gly Thr Gly Ala Asn Trp Arg Gln Met Ala Arg Glu Asn Pro 460 450 455

Leu Thr Gly Arg Ala 465

<210> 23

<211> 1344

<212> DNA

<213> Caenorhabditis elegans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1344)

<223> Delta-5-Desaturase

<400> 23

atg gta tta cga gag caa gag cat gag cca ttc ttc att aaa att gat 48 Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp 15 5 10 1

gga aaa tgg tgt caa att gac gat gct gtc ctg aga tca cat cca ggt 96 Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly

20 25 .30

ggt agt gca att act act tat aaa aat atg gat gcc act acc gta ttc Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe 35
cac aca ttc cat act ggt tct aaa gaa gcg tat caa tgg ctg aca gaa legs ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa caa caa gaa cca gag atc cca gat att aag leg leg leg leg leg for thr gln gln gln grown as gag act ttc aat aag gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat leg gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat leg gat gat tct gat gat gat gat gat gat gga act ttc aat leg gat gat tct gat gat gat gat gat gat gat gat gat ga
cac aca ttc cat act ggt tct aaa gaa gcg tat caa tgg ctg aca gaa 192 His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu 50 55 60 ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa gaa cca gag atc cca gat att aag Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys 65 70 75 80 gat gac cca atc aaa gga att gat gtg aac atg gga act ttc aat Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95 att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa gaa cca gag atc cca gat att aag Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys 65 70 70 75 80 gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95 att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 110 110
His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa gaa cca gag atc cca gat att aag Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys 65 70 70 75 80 gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95 att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 110 110
ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa gaa cca gag atc cca gat att aag Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys 65 70 75 80 gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95 att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa gaa cca gag atc cca gat att aag Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys 65 70 75 80 gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95 att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys 65 70 75 80 gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95 att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys 65 70 75 80 gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95 att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat 288 Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95 att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta 11e Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95 att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95 att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 110 384
Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95 att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 110 384
att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
att tct gag aaa cga tct gcc caa ata aat aaa agt ttc act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
The Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
The Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110 cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
100 105 110 cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc 384
Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe
115 120 125
tac att aga aaa att ctt gaa aca atc ttc aca att ctt ttt gca ttc 432
Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe
130 135 140
tac ctt caa tac cac aca tat tat ctt cca tca gct att cta atg gga 480
Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly
145 150 155 160
gtt gcg tgg caa caa ttg gga tgg tta atc cat gaa ttc gca cat cat 528
gtt gcg tgg caa caa ttg gga tgg tta atc cat gaa ttc gca cat cat 528 Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His
Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His
Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His

180 185 190

gga	aac	ttt	tta	caa	gga	ttc	tca	tct	ggt	ggt	tgg	aaa	gag	cag	cac	624
Gly	Asn	Phe	Leu	Gln	Gly	Phe	Ser	Ser	Gly	Gly	Trp	Lys	Glu	Gln	His	
		195					200					205				
aat	gtg	cat	cac	gca	gcc	aca	aat	gtt	gtt	gga	cga	gac	gga	gat	ctt	672
Asn	'Val	His	His	Ala	Ala	Thr	Asn	Val	Val	Gly	Arg	Asp	Gly	Asp	Leu	
	210					215					220					
gat	tta	gtc	cca	ttc	tat	gct	aca	gtg	gca	gaa	cat	ctc	aac	aat	tat	720
Asp	Leu	Val	Pro	Phe	Tyr	Ala	Thr	Val	Ala	Glu	His	Leu	Asn	Asn	Tyr	
225					230					235					240	
tct	cag	gat	tca	tgg	gtt	atg	act	cta	ttc	aga	tgg	caa	cat	gtt	cat	768
Ser	Gln	Asp	Ser	Trp	Val	Met	Thr	Leu	Phe	Arg	Trp	Gln	His	Val	His	
				245					250					255		
,																
tgg	aca	ttc	atg	tta	cca	ttc	ctc	cgt	ctc	tcg	tgg	ctt	ctt	cag	tca	816
Trp	Thr	Phe	Met	Leu	Pro	Phe	Leu	Arg	Leu	Ser	Trp	Leu	Leu	Gln	Ser	
			260					265					270			
atc	att	ttt	gtt	agt	cag	atg	cca	act	cat	tat	tat	gac	tat	tac	aga	864
Ile	Ile	Phe	Val	Ser	Gln	Met	Pro	Thr	His	Tyr	Tyr	Asp	Tyr	Tyr	Arg	
		275					280					285				
aat	act	gcg	att	tat	gaa	cag	gtt	ggt	ctc	tct	ttg	cac	tgg	gct	tgg	912
Asn	Thr	Ala	Ile	Tyr	Glu	Gln	Val	Gly	Leu	Ser	Leu	His	Trp	Ala	Trp	
	290					295					300					
tca	ttg	ggt	caa	ttg	tat	ttc	cta	ccc	gat	tgg	tca	act	aga	ata	atg	960
Ser	Leu	Gly	Gln	Leu	Tyr	Phe	Leu	Pro	Asp	Trp	Ser	Thr	Arg	Ile	Met	
305					310					315					320	
ttc	ttc	ctt	gtt	tct	cat	ctt	gtt	gga	ggt	ttc	ctg	ctc	tct	cat	gta	1008
Phe	Phe	Leu	Val	Ser	His	Leu	Val	Gly	Gly	Phe	Leu	Leu	Ser	His	Val	
				325					330					335		
gtt	act	ttc	aat	cat	tat	tca	gtg	gag	aag	ttt	gca	ttg	agc	tcg	aac	1056
Val	Thr	Phe	Asn	His	Tyr	Ser	Val	Glu	Lys	Phe	Ala	Leu	Ser	Ser	Asn	

340 345 3.50

atc atg tca aat tac gct tgt ctt caa atc atg acc aca aga aat atg 1104 Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met 360 365 355 aga cct gga aga ttc att gac tgg ctt tgg gga ggt ctt aac tat cag 1152 Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln 380 375 370 att gag cac cat ctt ttc cca acg atg cca cga cac aac ttg aac act 1200 Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr 400 395 390 385 gtt atg cca ctt gtt aag gag ttt gca gca gca aat ggt tta cca tac 1248 Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr 415 410 405

atg gtc gac gat tat ttc aca gga ttc tgg ctt gaa att gag caa ttc 1296
Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe
420 425 430

cga aat att gca aat gtt gct gct aaa ttg act aaa aag att gcc tag 1344 Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala 435 440 445

<210> 24

<211> 447

<212> PRT

<213> Caenorhabditis elegans

<400> 24

Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp 1 5 10 15

Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly
20 25 30

Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe

35 40 45 .

His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu 50 55 60

Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys
65 70 75 80

Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95

Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110

Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe 115 120 125

Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe 130 135 140

Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly
145 150 155 160

Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His

165 170 175

Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val 180 185 190

Gly Asn Phe Leu Gln Gly Phe Ser Ser Gly Gly Trp Lys Glu Gln His 195 200 205

Asn Val His His Ala Ala Thr Asn Val Val Gly Arg Asp Gly Asp Leu 210 215 220

Asp Leu Val Pro Phe Tyr Ala Thr Val Ala Glu His Leu Asn Asn Tyr 225 230 235 240

Ser Gln Asp Ser Trp Val Met Thr Leu Phe Arg Trp Gln His Val His 245 250 255

Trp Thr Phe Met Leu Pro Phe Leu Arg Leu Ser Trp Leu Leu Gln Ser 260 265 270

Ile Ile Phe Val Ser Gln Met Pro Thr His Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Arg 275 280 285

Asn Thr Ala Ile Tyr Glu Gln Val Gly Leu Ser Leu His Trp Ala Trp
290 295 300

Ser Leu Gly Gln Leu Tyr Phe Leu Pro Asp Trp Ser Thr Arg Ile Met 305 310 315

Phe Phe Leu Val Ser His Leu Val Gly Gly Phe Leu Leu Ser His Val

Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val Glu Lys Phe Ala Leu Ser Ser Asn 340 345 350

Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met 355 360 365

Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln 370 375 380

Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr 385 390 395 400

Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr 405 410 415

Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe 420 425 430

Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala 435 440 445 <212> DNA

<213> Mortierella alpina

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(954)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 25

atg gcc gcc gca atc ttg gac aag gtc aac ttc ggc att gat cag ccc 48
Met Ala Ala Ala Ile Leu Asp Lys Val Asn Phe Gly Ile Asp Gln Pro

1 5 10 15

ttc gga atc aag ctc gac acc tac ttt gct cag gcc tat gaa ctc gtc 96
Phe Gly Ile Lys Leu Asp Thr Tyr Phe Ala Gln Ala Tyr Glu Leu Val
20 25 30

acc gga aag tcc atc gac tcc ttc gtc ttc cag gag ggc gtc acg cct 144

Thr Gly Lys Ser Ile Asp Ser Phe Val Phe Gln Glu Gly Val Thr Pro

35 40 45

ctc tcg acc cag aga gag gtc gcc atg tgg act atc act tac ttc gtc 192
Leu Ser Thr Gln Arg Glu Val Ala Met Trp Thr Ile Thr Tyr Phe Val
50 55 60

gtc atc ttt ggt ggt cgc cag atc atg aag agc cag gac gcc ttc aag 240
Val Ile Phe Gly Gly Arg Gln Ile Met Lys Ser Gln Asp Ala Phe Lys
65 70 75 80

ctc aag ccc ctc ttc atc ctc cac aac ttc ctc ctg acg atc gcg tcc 288
Leu Lys Pro Leu Phe Ile Leu His Asn Phe Leu Leu Thr Ile Ala Ser
85 90 95

gga tcg ctg ttg ctc ctg ttc atc gag aac ctg gtc ccc atc ctc gcc 336
Gly Ser Leu Leu Leu Phe Ile Glu Asn Leu Val Pro Ile Leu Ala
100 105 110

aga aac gga ctt ttc tac gcc atc tgc gac gac ggt gcc tgg acc cag 384
Arg Asn Gly Leu Phe Tyr Ala Ile Cys Asp Asp Gly Ala Trp Thr Gln
115 120 125

													•			
cgc	ctc	gag	ctc	ctc	tac	tac	ctc	aac	tac	ctg	gtc	aag	tac	tgg	gag	432
Arg	Leu	Glu	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Tyr	Leu	Val	Lys	Tyr	Trp	Glu	
	130					135					140					
ttg	gcc	gac	acc	gtc	ttt	ttg	gtc	ctc	aag	aag	aag	cct	ctt	gag	ttc	480
Leu	Ala	Asp	Thr	Val	Phe	Leu	Val	Leu	Lys	Lys	Lys	Pro	Leu	Glu	Phe	
145					150					155					160	
ctg	cac	tac	ttc	cac	cac	tcg	atg	acc	atg	gtt	ctc	tgc	ttt	gtc	cag	528
											Leu					
		-		165					170					175		
ctt	gga	gga	tac	act	tca	gtg	tcc	tgg	gtc	cct	att	acc	ctc	aac	ttg	576
											Ile			•		
			180					185					190			
act	atc	cac	atc	ttc	ato	tac	tac	tac	tac	atg	cgc	tcc	gct	gcc	ggt	624
											Arg					
		195					200	-1-				205			•	
att	cac	atc	taa	taa	aaσ	cad	tac	tta	acc	act	ctc	саσ	atc	atc	cao	672
											Leu					
vai	210	116	TIP	115	LlyS	215	171	Dea	1111	1111	220	0111		· ~ _	0211	
	210		•			213					220					
++0	~++	a++	~= <i>c</i>	ctc	~~=	++0	atc	tac	++0	tac	gcc	tac	acc	tac	ttc	720
	_										Ala					, 20
	vai	Den	ASD	neu		FILE	116	TYL	FILE	235		171	1111	-7-	240	
225					230					2,,					240	
~~~	++0	200	tac	++0	000	taa	act	ccc	220	at c	ggc	220	tac	acc	aat	768
																700
Ala	Pne	Thr	TYL		Pro	тър	Ala	PIO		vai	Gly	гуs	Cys		GIY	
				245					250					255		
					- •-							<b>.</b>		<b>.</b>		016
			_	_				-			ctc -					816
Thr	Glu	Gly		Ala	Leu	Phe	GIY	-	GIA	Leu	Leu	Ser		ıyr	Leu	
			260					265					270			
											_					064
_											aat					864
Leu	Leu		Ile	Asn	Phe	Tyr		Ile	Thr	Tyr	Asn		Lys	Ala	Lys	
		275					280					285				

gca gcc aag gag cgt gga agc aac ttt acc ccc aag act gtc aag tcc 912 Ala Ala Lys Glu Arg Gly Ser Asn Phe Thr Pro Lys Thr Val Lys Ser 

ggc gga tcg ccc aag aag ccc tcc aag agc aag cac atc taa Gly Gly Ser Pro Lys Lys Pro Ser Lys Ser Lys His Ile 

<210> 26

<211> 317

<212> PRT

<213> Mortierella alpina

<400> 26

Met Ala Ala Ile Leu Asp Lys Val Asn Phe Gly Ile Asp Gln Pro 

Phe Gly Ile Lys Leu Asp Thr Tyr Phe Ala Gln Ala Tyr Glu Leu Val 

Thr Gly Lys Ser Ile Asp Ser Phe Val Phe Gln Glu Gly Val Thr Pro 

Leu Ser Thr Gln Arg Glu Val Ala Met Trp Thr Ile Thr Tyr Phe Val 

Val Ile Phe Gly Gly Arg Gln Ile Met Lys Ser Gln Asp Ala Phe Lys 

Leu Lys Pro Leu Phe Ile Leu His Asn Phe Leu Leu Thr Ile Ala Ser 

Gly Ser Leu Leu Leu Phe Ile Glu Asn Leu Val Pro Ile Leu Ala 

Arg Asn Gly Leu Phe Tyr Ala Ile Cys Asp Asp Gly Ala Trp Thr Gln 

70

Arg Leu Glu Leu Leu Tyr Tyr Leu Asn Tyr Leu Val Lys Tyr Trp Glu 130 135 140

Leu Ala Asp Thr Val Phe Leu Val Leu Lys Lys Pro Leu Glu Phe 145 150 155 160

Leu His Tyr Phe His His Ser Met Thr Met Val Leu Cys Phe Val Gln
165 170 175

Leu Gly Gly Tyr Thr Ser Val Ser Trp Val Pro Ile Thr Leu Asn Leu 180 185 190

Thr Val His Val Phe Met Tyr Tyr Tyr Tyr Met Arg Ser Ala Ala Gly
195 200 205

Val Arg Ile Trp Trp Lys Gln Tyr Leu Thr Thr Leu Gln Ile Val Gln 210 215 220

Phe Val Leu Asp Leu Gly Phe Ile Tyr Phe Cys Ala Tyr Thr Tyr Phe 225 230 235 240

Ala Phe Thr Tyr Phe Pro Trp Ala Pro Asn Val Gly Lys Cys Ala Gly 245 250 255

Thr Glu Gly Ala Ala Leu Phe Gly Cys Gly Leu Leu Ser Ser Tyr Leu 260 265 270

Leu Leu Phe Ile Asn Phe Tyr Arg Ile Thr Tyr Asn Ala Lys Ala Lys
275 280 285

Ala Ala Lys Glu Arg Gly Ser Asn Phe Thr Pro Lys Thr Val Lys Ser 290 295 300

Gly Gly Ser Pro Lys Lys Pro Ser Lys Ser Lys His Ile 305 310 315

<210> 27

<211> 1320

<212> DNA

<213> Thraustochytrium

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1320)

<223> Delta-5-Desaturase

<400> 27

48 Met Gly Lys Gly Ser Glu Gly Arg Ser Ala Ala Arg Glu Met Thr Ala 15 10 1

gag gcg aac ggc gac aag cgg aaa acg att ctg atc gag ggc gtc ctg 96 Glu Ala Asn Gly Asp Lys Arg Lys Thr Ile Leu Ile Glu Gly Val Leu 25 20

tac gac gcg acg aac ttt aag cac ccg ggc ggt tcg atc atc aac ttc 144 Tyr Asp Ala Thr Asn Phe Lys His Pro Gly Gly Ser Ile Ile Asn Phe 45 40 35

ttg acc gag ggc gag gcc ggc gtg gac gcg acg cag gcg tac cgc gag 192 Leu Thr Glu Gly Glu Ala Gly Val Asp Ala Thr Gln Ala Tyr Arg Glu - 60 55 50

ttt cat cag cgg tcc ggc aag gcc gac aag tac ctc aag tcg ctg ccg 240 Phe His Gln Arg Ser Gly Lys Ala Asp Lys Tyr Leu Lys Ser Leu Pro 80 75 . 70 65

aag ctg gat gcg tcc aag gtg gag tcg cgg ttc tcg gcc aaa gag cag Lys Leu Asp Ala Ser Lys Val Glu Ser Arg Phe Ser Ala Lys Glu Gln 95 85 90

gcg cgg cgc gac gcc atg acg cgc gac tac gcg gcc ttt cgc gag gag Ala Arg Arg Asp Ala Met Thr Arg Asp Tyr Ala Ala Phe Arg Glu Glu 110 100 105

ctc gtc gcc gag ggg tac ttt gac ccg tcg atc ccg cac atg att tac Leu Val Ala Glu Gly Tyr Phe Asp Pro Ser Ile Pro His Met Ile Tyr 125 120 115

									7	12						
cgc	gtc	gtg	gag	atc	gtg	gcg	ctc	ttc	gcg	ctc	tcg	ttc	tgg	ctc	atg	432
	Val															
	130					135				•	140					
t.cc	aag	acc	tca	ccc	acc	tcg	ctc	gtg	ctg	ggc	gtg	gtg	atg	aac	ggc	480
	Lys															
145	2,2				150					155					160	
145																
2++	gcg	car	aac	cac	tac	aac	taa	atc	atg	cac	gág	atg	ggc	cac	ggg	528
	Ala															
116	Ala	Gill	GIY	165	Cyb	013	LLP		170				_	175		
				103												
	ttc		~~~	at a	ato	taa	ctc	cac	rac	caa	ato	tac	σaσ	ttc	ttc	576
Ser	Phe	Thr		vai	TTE	пр	Leu	185	ASP	мg	1100	٥٢٥	190			
			180					100					150			
										<b>+ -</b>	t ~ ~	224	220	cac	cac	624
	ggc															022
Tyr	Gly		Gly	Cys	Gly	Met		GIY	HIS	TYL	TIP		ASII	GIII	nis	
		195					200					205				
																677
															ctc	672
Ser	Lys	His	His	Ala	Ala	Pro	Asn	Arg	Leu	Glu		Asp	Val	Asp	Leu	
	210					215					220					
															gtc	720
Asn	Thr	Leu	Pro	Leu	Val	Ala	Phe	Asn	Glu	Arg	Val	Val	Arg	Lys	Val	
225					230					235					240	
aag	ccg	gga	tcg	ctg	ctg	gcg	ctc	tgg	ctg	cgc	gtg	cag	gcg	tac	ctc	768
Lys	Pro	Gly	Ser	Leu	Leu	Ala	Leu	Trp	Leu	Arg	Val	Gln	Ala	Tyr	Leu	
				245					250					255	<b>i</b>	
ttt	gcg	ccc	gto	tcg	tgc	ctg	ctc	atc	ggc	ctt	ggc	tgg	acg	cto	tac	816
															Tyr	
			260					265					270			
ctc	r cac		ו כמי	: tac	ato	cto	cac	acc	aac	g cgc	, cac	ato	gag	, tto	gtc	864
															e Val	
net		275		, -3-			280			-		285				
		215	,				200	•								

V	VO 03	/0934	82							73 .		PCT/EP03/04297				
	•												.~~	act	ata	912
			gcg													312
Trp	Ile	Phe	Ala	Arg	Tyr		GIY	Trp	Phe	Ser		met	GIY	ALA	rea	
	290					295					300					
													•			0.00
			ccg													960
Gly	Tyr	Ser	Pro	Gly	Thr	Ser	Val	Gly	Met		Leu	Cys	Ser	Pne		
305					310					315					320	
												-				
			att													1008
Leu	Gly	Cys	Ile	Tyr	Ile	Phe	Leu	Gln	Phe	Ala	Val	Ser	His	Thr	His	
				325					330					335		
ctg	ccg	gtg	acc	aac	ccg	gag	gac	cag	ctg	cac	tgg	ctc	gag	tac	gcg	1056
Leu	Pro	Val	Thr	Asn	Pro	Glu	Asp	Gln	Leu	His	Trp	Leu	Glu	$\mathop{\mathtt{Tyr}}_{\cdot}$	Ala	
			340					345					350			
														,		
gcc	gac	cac	acg	gtg	aac	att	agc	acc	aag	tcc	tgg	ctc	gtc	acg	tgg	1104
Ala	Asp	His	Thr	Val	Asn	Ile	Ser	Thr	Lys	Ser	Trp	Leu	Val	Thr	Trp	
	_	355					360					365				
		•														
taa	ato	tcg	aac	ctg	aac	ttt	cag	atc	gag	cac	cac	ctc	ttc	ccc	acg	1152
			Asn													
	370					375					380					
																•
aca	cca	cag	ttc	cac	ttc	aag	gaa	atc	agt	cct	cgc	gtc	gag	gcc	ctc	1200
			Phe													
385		, <del></del>		3	390					395		•			400	٠
505														-		
ttc	nss	cac	cac	aac	ctc	cca	tac	tac	gac	ctg	ccc	tac	acg	agc	gcg	1248
			His													
FIIC	БyЗ	n g	1110	405	200		-1-	- 1 -	410			-		415		
				400												
~+ ~	+~~	200	acc	+++	acc.	aat	ctt	tat	tcc	σtc	ggc	cac	tca	atc	gac	1296
-															Gly	
val	ser	TILL	420	FIIE	AId	noil	neu	425	<u> ۲</u> ټ	- u.	~~y		430		2	
			420					323					-20 Ý			
						~	+							-		1320
gcc	gac	acc	aag	aag	cag	gac	uga									

Ala Asp Thr Lys Lys Gln Asp

<210> 28

<211> 439

<212> PRT

<213> Thraustochytrium

<400> 28

Met Gly Lys Gly Ser Glu Gly Arg Ser Ala Ala Arg Glu Met Thr Ala 1 5 10 15

Glu Ala Asn Gly Asp Lys Arg Lys Thr Ile Leu Ile Glu Gly Val Leu 20 25 30

Tyr Asp Ala Thr Asn Phe Lys His Pro Gly Gly Ser Ile Ile Asn Phe 35 40 45

Leu Thr Glu Gly Glu Ala Gly Val Asp Ala Thr Gln Ala Tyr Arg Glu 50 55 60

Phe His Gln Arg Ser Gly Lys Ala Asp Lys Tyr Leu Lys Ser Leu Pro 65 70 75 80

Lys Leu Asp Ala Ser Lys Val Glu Ser Arg Phe Ser Ala Lys Glu Gln 85 90 95

Ala Arg Arg Asp Ala Met Thr Arg Asp Tyr Ala Ala Phe Arg Glu Glu
100 105 110

Leu Val Ala Glu Gly Tyr Phe Asp Pro Ser Ile Pro His Met Ile Tyr 115 120 125

Arg Val Val Glu Ile Val Ala Leu Phe Ala Leu Ser Phe Trp Leu Met
130 135 140

Ser Lys Ala Ser Pro Thr Ser Leu Val Leu Gly Val Val Met Asn Gly 145 150 155 160

Ile Ala Gln Gly Arg Cys Gly Trp Val Met His Glu Met Gly His Gly 165 170 175

Ser Phe Thr Gly Val Ile Trp Leu Asp Asp Arg Met Cys Glu Phe Phe 180 185 190

Tyr Gly Val Gly Cys Gly Met Ser Gly His Tyr Trp Lys Asn Gln His 195 200 205

Ser Lys His His Ala Ala Pro Asn Arg Leu Glu His Asp Val Asp Leu 210 215 220

Asn Thr Leu Pro Leu Val Ala Phe Asn Glu Arg Val Val Arg Lys Val
225 230 235 240

Lys Pro Gly Ser Leu Leu Ala Leu Trp Leu Arg Val Gln Ala Tyr Leu 245 250 255

Phe Ala Pro Val Ser Cys Leu Leu Ile Gly Leu Gly Trp Thr Leu Tyr 260 265 270

Leu His Pro Arg Tyr Met Leu Arg Thr Lys Arg His Met Glu Phe Val 275 280 285

Trp Ile Phe Ala Arg Tyr Ile Gly Trp Phe Ser Leu Met Gly Ala Leu 290 295 300

Gly Tyr Ser Pro Gly Thr Ser Val Gly Met Tyr Leu Cys Ser Phe Gly 305 310 315 320

Leu Gly Cys Ile Tyr Ile Phe Leu Gln Phe Ala Val Ser His Thr His
325 330 335

Leu Pro Val Thr Asn Pro Glu Asp Gln Leu His Trp Leu Glu Tyr Ala 340 345 350

Ala Asp His Thr Val Asn Ile Ser Thr Lys Ser Trp Leu Val Thr Trp
355 360 365

Trp Met Ser Asn Leu Asn Phe Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr 370 375 380

Ala Pro Gln Phe Arg Phe Lys Glu Ile Ser Pro Arg Val Glu Ala Leu

76

385 390 395 400

Phe Lys Arg His Asn Leu Pro Tyr Tyr Asp Leu Pro Tyr Thr Ser Ala 405 410 415

Val Ser Thr Thr Phe Ala Asn Leu Tyr Ser Val Gly His Ser Val Gly 420 425 430

Ala Asp Thr Lys Lys Gln Asp 435

<210> 29

<211> 957

<212> DNA

<213> Mortierella alpina

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(957)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 29

atg gag tcg att gcg cca ttc ctc cca tca aag atg ccg caa gat ctg 48

Met Glu Ser Ile Ala Pro Phe Leu Pro Ser Lys Met Pro Gln Asp Leu

1 5 10 15

ttt atg gac ctt gcc acc gct atc ggt gtc cgg gcc gcg ccc tat gtc 96
Phe Met Asp Leu Ala Thr Ala Ile Gly Val Arg Ala Ala Pro Tyr Val
20 25 30

gat cct ctc gag gcc gcg ctg gtg gcc cag gcc gag aag tac atc ccc 144
Asp Pro Leu Glu Ala Ala Leu Val Ala Gln Ala Glu Lys Tyr Ile Pro
35 40 45

acg att gtc cat cac acg cgt ggg ttc ctg gtc gcg gtg gag tcg cct 192

Thr Ile Val His His Thr Arg Gly Phe Leu Val Ala Val Glu Ser Pro

50 55 60

ttg gcc cgt gag ctg ccg ttg atg aac ccg ttc cac gtg ctg ttg atc 240

Leu Ala Arg Glu Leu Pro Leu Met Asn Pro Phe His Val Leu Leu Ile

65 70 75 80

gtg ctc gct tat ttg gtc acg gtc ttt gtg ggc atg cag atc atg aag 288
Val Leu Ala Tyr Leu Val Thr Val Phe Val Gly Met Gln Ile Met Lys
85 90 95

aac tit gag cgg tic gag gic aag acg tit teg ete etg eae aac tit 336 Asn Phe Glu Arg Phe Glu Val Lys Thr Phe Ser Leu Leu His Asn Phe 100 105 110

tgt ctg gtc tcg atc agc gcc tac atg tgc ggt ggg atc ctg tac gag 384 Cys Leu Val Ser Ile Ser Ala Tyr Met Cys Gly Gly Ile Leu Tyr Glu 115 120 125

gct tat cag gcc aac tat gga ctg ttt gag aac gct gct gat cat acc 432
Ala Tyr Gln Ala Asn Tyr Gly Leu Phe Glu Asn Ala Ala Asp His Thr
130 135 140

ttc aag ggt ctt cct atg gcc aag atg atc tgg ctc ttc tac ttc tcc 480

Phe Lys Gly Leu Pro Met Ala Lys Met Ile Trp Leu Phe Tyr Phe Ser

145 150 155 160

aag atc atg gag ttt gtc gac acc atg atc atg gtc ctc aag aag aac 528 Lys Ile Met Glu Phe Val Asp Thr Met Ile Met Val Leu Lys Lys Asn 165 170 175

aac cgc cag atc tcc ttc ttg cac gtt tac cac cac agc tcc atc ttc 576
Asn Arg Gln Ile Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ser Ile Phe
180 185 190

acc atc tgg tgg ttg gtc acc ttt gtt gca ccc aac ggt gaa gcc tac 624
Thr Ile Trp Trp Leu Val Thr Phe Val Ala Pro Asn Gly Glu Ala Tyr
195 200 205

ttc tct gct gcg ttg aac tcg ttc atc cat gtg atc atg tac ggc tac

Phe Ser Ala Ala Leu Asn Ser Phe Ile His Val Ile Met Tyr Gly Tyr

210

215

220

tac ttc ttg tcg gcc ttg ggc ttc aag cag gtg tcg ttc atc aag ttc 720

						1										
WO 03/093482												P	CT/EP0	3/04297		
						78										
Tyr	Phe	Leu	Ser	Ala	Leu	Gly	Phe	Lys	${\tt Gln}$	Val	Ser	Phe	Ile	Lys	Phe	
225					230					235	•				240	
tac	atc	acg	cgc	tcg	cag	atg	aca	cag	ttc	tgc	atg	atg	tcg	gtc	cag	768
			Arg													
				245					250		•			255		
tct	tcc	tgg	gac	atg	tac	gcc	atg	aag	gtc	ctt	ggc	cgc	ccc	gga	tac	816
			Asp													
			260		- • -			265					270			
			200													
666	++c	ttc	atc	aca	act	cta	ctt	taa	ttc	tac	ato	taa	acc	ato	ctc	864
			Ile													
PIO	PHE		116	1111	AIG	Deu	280	111	1110	-3-		285				
		275					280					205		-		
												<b>.</b>				012
			tac													912
Gly	Leu	Phe	Tyr	Asn	Phe		Arg	Lys	Asn	Ala		Leu	Ala	гàг	Gin	
	290					295					300					
gcc	aag	gcc	gac	gct	gcc	aag	gag	aag	gca	agg	aag	ttg	cag	taa		957
Ala	Lys	Ala	Asp	Ala	Ala	Lys	Glu	Lys	Ala	Arg	Lys	Leu	Gln			
305					310					315						

<210> 30

<211> 318

<212> PRT

<213> Mortierella alpina

<400> 30

Met Glu Ser Ile Ala Pro Phe Leu Pro Ser Lys Met Pro Gln Asp Leu 1 5 10 15

Phe Met Asp Leu Ala Thr Ala Ile Gly Val Arg Ala Ala Pro Tyr Val 20 25 30

Asp Pro Leu Glu Ala Ala Leu Val Ala Gln Ala Glu Lys Tyr Ile Pro 35 40 45

Thr Ile Val His His Thr Arg Gly Phe Leu Val Ala Val Glu Ser Pro

50 55 60

Leu Ala Arg Glu Leu Pro Leu Met Asn Pro Phe His Val Leu Leu Ile
65 70 75 80

Val Leu Ala Tyr Leu Val Thr Val Phe Val Gly Met Gln Ile Met Lys 85 90 95

Asn Phe Glu Arg Phe Glu Val Lys Thr Phe Ser Leu Leu His Asn Phe 100 . 105 110

Cys Leu Val Ser Ile Ser Ala Tyr Met Cys Gly Gly Ile Leu Tyr Glu 115 120 125

Ala Tyr Gln Ala Asn Tyr Gly Leu Phe Glu Asn Ala Ala Asp His Thr
130 135 140

Phe Lys Gly Leu Pro Met Ala Lys Met Ile Trp Leu Phe Tyr Phe Ser 145 150 155 160

Lys Ile Met Glu Phe Val Asp Thr Met Ile Met Val Leu Lys Lys Asn 165 170 175

Asn Arg Gln Ile Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ser Ile Phe 180 185 190

Thr Ile Trp Trp Leu Val Thr Phe Val Ala Pro Asn Gly Glu Ala Tyr 195 200 205

Phe Ser Ala Ala Leu Asn Ser Phe Ile His Val Ile Met Tyr Gly Tyr 210 215 220

Tyr Phe Leu Ser Ala Leu Gly Phe Lys Gln Val Ser Phe Ile Lys Phe 225 230 235 240

Tyr Ile Thr Arg Ser Gln Met Thr Gln Phe Cys Met Met Ser Val Gln
245 250 255

Ser Ser Trp Asp Met Tyr Ala Met Lys Val Leu Gly Arg Pro Gly Tyr 260 265 270

80

Pro Phe Phe Ile Thr Ala Leu Leu Trp Phe Tyr Met Trp Thr Met Leu 275 280 285

Gly Leu Phe Tyr Asn Phe Tyr Arg Lys Asn Ala Lys Leu Ala Lys Gln 290 295 300

Ala Lys Ala Asp Ala Ala Lys Glu Lys Ala Arg Lys Leu Gln 305 310 315

<210> 31

<211> 1374

<212> DNA

<213> Mortierella alpina

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1374)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 31

atg gct gct gct ccc agt gtg agg acg ttt act cgg gcc gag gtt ttg 48

Met Ala Ala Pro Ser Val Arg Thr Phe Thr Arg Ala Glu Val Leu

1 5 10 15

aat gcc gag gct ctg aat gag ggc aag aag gat gcc gag gca ccc ttc 96
Asn Ala Glu Ala Leu Asn Glu Gly Lys Lys Asp Ala Glu Ala Pro Phe
20 25 30

ttg atg atc atc gac aac aag gtg tac gat gtt cgc gag ttc gtc cct 144
Leu Met Ile Ile Asp Asn Lys Val Tyr Asp Val Arg Glu Phe Val Pro
35 40 45

gat cat ccc ggt gga agt gtg att ctc acg cac gtt ggc aag gac ggc 192
Asp His Pro Gly Gly Ser Val Ile Leu Thr His Val Gly Lys Asp Gly
50 55 60

act gac gtc ttt gac act ttt cac ccc gag gct gct tgg gag act ctt 240 Thr Asp Val Phe Asp Thr Phe His Pro Glu Ala Ala Trp Glu Thr Leu

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	01	

										81						
65					70					75			•		80	
										255	~~~	555	a a t	atc	220	288
_					ggt											200
Ala	Asn	Phe	Tyr		Gly	Asp	Ile	Asp		Ser	Asp	Arg	Asp		гуѕ	
				85					90					95		
																226
					gcc											336
Asn	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Glu	Val	Arg	Lys	Leu	Arg	Thr		Phe	Gln	
			100					105					110			
														•		
					gat											384
Ser	Leu	Gly	Tyr	Tyr	Asp	Ser	Ser	Lys	Ala	Tyr	Tyr	Ala	Phe	Lys	Val	
		115					120					125				
														-		
					atc											432
Ser	Phe	Asn	Leu	Cys	Ile	$\mathtt{Trp}$	Gly	Leu	Ser	Thr	Val	Ile	Val	Ala	Lys	
	130					135					140					
											•		•			
tgg	ggc	cag	acc	tcg	acc	ctc	gcc	aac	gtg	ctc	tcg	gct	gcg	ctt	ttg	480
Trp	Gly	Gln	Thr	Ser	Thr	Leu	Ala	Asn	Val	Leu	Ser	Ala	Ala	Leu	Leu	
145					150					155					160	
													•			
ggt	ctg	ttc	tgg	cag	cag	tgc	gga	tgg	ttg	gct	cac	gac	ttt	ttg	cat	528
Gly	Leu	Phe	Trp	Gln	Gln	Cys	Gly	Trp	Leu	Ala	His	Asp	Phe	Leu	His	
				165				÷	170					175		
cac	cag	gtc	ttc	cag	gac	cgt	ttc	tgg	ggt	gat	ctt	ttc	ggc	gcc	ttc	576
His	Gln	Val	Phe	Gln	Asp	Arg	Phe	Trp	Gly	Asp	Leu	Phe	Gly	Ala	Phe	
			180					185					190			
ttg	gga	ggt	gtc	tgc	cag	ggc	ttc	tcg	tcc	tcg	tgg	tgg	aag	gac	aag	624
Leu	Gly	Gly	Val	Cys	Gln	Gly	Phe	Ser	Ser	Ser	Trp	Trp	Lys	Asp	Lys	
		195					200		•			205				
cac	aac	act	cac	cac	gcc	gcc	ccc	aac	gtc	cac	ggc	gag	gat	ccc	gac	672
															Asp.	
	210					215					220					
att	gac	acc	cac	cct	ctg	ttg	acc	tgg	agt	gag	cat	gcg	ttg	gag	atg	720
	-				Leu											
					_			-								

ttc tcg gat gtc cca gat gag gag ctg acc cgc atg tgg tcg cgt ttc Phe Ser Asp Val Pro Asp Glu Glu Leu Thr Arg Met Trp Ser Arg Phe atg gtc ctg aac cag acc tgg ttt tac ttc ccc att ctc tcg ttt gcc Met Val Leu Asn Gln Thr Trp Phe Tyr Phe Pro Ile Leu Ser Phe Ala cgt ctc tcc tgg tgc ctc cag tcc att ctc ttt gtg ctg cct aac ggt Arg Leu Ser Trp Cys Leu Gln Ser Ile Leu Phe Val Leu Pro Asn Gly cag gcc cac aag ccc tcg ggc gcg cgt gtg ccc atc tcg ttg gtc gag Gln Ala His Lys Pro Ser Gly Ala Arg Val Pro Ile Ser Leu Val Glu cag ctg tcg ctt gcg atg cac tgg acc tgg tac ctc gcc acc atg ttc Gln Leu Ser Leu Ala Met His Trp Thr Trp Tyr Leu Ala Thr Met Phe ctg ttc atc aag gat ccc gtc aac atg ctg gtg tac ttt ttg gtg tcg Leu Phe Ile Lys Asp Pro Val Asn Met Leu Val Tyr Phe Leu Val Ser cag gcg gtg tgc gga aac ttg ttg gcg atc gtg ttc tcg ctc aac cac Gln Ala Val Cys Gly Asn Leu Leu Ala Ile Val Phe Ser Leu Asn His aac ggt atg cct gtg atc tcg aag gag gcg gtc gat atg gat ttc Asn Gly Met Pro Val Ile Ser Lys Glu Glu Ala Val Asp Met Asp Phe ttc acg aag cag atc atc acg ggt cgt gat gtc cac ccg ggt cta ttt Phe Thr Lys Gln Ile Ile Thr Gly Arg Asp Val His Pro Gly Leu Phe 

gcc aac tgg ttc acg ggt gga ttg aac tat cag atc gag cac cac ttg Ala Asn Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Ile Glu His His Leu

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	83	

	63															
385					390					395			•		400	
																1248
ttc	cct	tcg	atg	cct	cgc	cac	aac	ttt	tca	aag	atc	cag	CCL	gct	gte	1240
Phe	Pro	Ser	Met	Pro	Arg	His	Asn	Phe	Ser	Lys	Ile	Gln	Pro	Ala	Val	
				405					410					415		
										-						
gag	acc	ctg	tgc	aaa	aag	tac	aat	gtc	cga	tac	cac	acc	acc	ggt	atg	1296
Glu	Thr	Leu	Cys	Lys	Lys	Tyr	Asn	Val	Arg	Tyr	His	Thr	Thr	Gly	Met	
			420					425					430			
ato	gag	gga	act	gca	gag	gtc	ttt	agc	cgt	ctg	aac	gag	gtc	tcc	aag	1344
	Glu															
		435					440					445				

gct gcc tcc aag atg ggt aag gcg cag taa 1374
Ala Ala Ser Lys Met Gly Lys Ala Gln
450 455

<210> 32

<211> 457

<212> PRT

<213> Mortierella alpina

<400> 32

Met Ala Ala Pro Ser Val Arg Thr Phe Thr Arg Ala Glu Val Leu

1 5 10 15

Asn Ala Glu Ala Leu Asn Glu Gly Lys Lys Asp Ala Glu Ala Pro Phe 20 25 30

Leu Met Ile Ile Asp Asn Lys Val Tyr Asp Val Arg Glu Phe Val Pro 35 40 45

Asp His Pro Gly Gly Ser Val Ile Leu Thr His Val Gly Lys Asp Gly 50 55 60

Thr Asp Val Phe Asp Thr Phe His Pro Glu Ala Ala Trp Glu Thr Leu 65 70 75 80

Ala Asn Phe Tyr Val Gly Asp Ile Asp Glu Ser Asp Arg Asp Ile Lys
85 90 95

Asn Asp Asp Phe Ala Ala Glu Val Arg Lys Leu Arg Thr Leu Phe Gln
100 105 110

Ser Leu Gly Tyr Tyr Asp Ser Ser Lys Ala Tyr Tyr Ala Phe Lys Val

Ser Phe Asn Leu Cys Ile Trp Gly Leu Ser Thr Val Ile Val Ala Lys
130 135 140

Trp Gly Gln Thr Ser Thr Leu Ala Asn Val Leu Ser Ala Ala Leu Leu 145 150 155 160

Gly Leu Phe Trp Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His
165 170 175

His Gln Val Phe Gln Asp Arg Phe Trp Gly Asp Leu Phe Gly Ala Phe 180 185 190

Leu Gly Gly Val Cys Gln Gly Phe Ser Ser Ser Trp Trp Lys Asp Lys
195 200 205

His Asn Thr His His Ala Ala Pro Asn Val His Gly Glu Asp Pro Asp 210 215 220

Ile Asp Thr His Pro Leu Leu Thr Trp Ser Glu His Ala Leu Glu Met 225 230 235 240

Phe Ser Asp Val Pro Asp Glu Glu Leu Thr Arg Met Trp Ser Arg Phe 245 250 255

Met Val Leu Asn Gln Thr Trp Phe Tyr Phe Pro Ile Leu Ser Phe Ala 260 265 270

Arg Leu Ser Trp Cys Leu Gln Ser Ile Leu Phe Val Leu Pro Asn Gly 275 280 285

Gln Ala His Lys Pro Ser Gly Ala Arg Val Pro Ile Ser Leu Val Glu

85

300

295

Gln Leu Ser Leu Ala Met His Trp Thr Trp Tyr Leu Ala Thr Met Phe 305 310 315 320

Leu Phe Ile Lys Asp Pro Val Asn Met Leu Val Tyr Phe Leu Val Ser 325 330 335

Gln Ala Val Cys Gly Asn Leu Leu Ala Ile Val Phe Ser Leu Asn His 340 345 350

Asn Gly Met Pro Val Ile Ser Lys Glu Glu Ala Val Asp Met Asp Phe 355 360 365

Phe Thr Lys Gln Ile Ile Thr Gly Arg Asp Val His Pro Gly Leu Phe 370 375 380

Ala Asn Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Ile Glu His His Leu 385 390 395 400

Phe Pro Ser Met Pro Arg His Asn Phe Ser Lys Ile Gln Pro Ala Val 405 410 415

Glu Thr Leu Cys Lys Lys Tyr Asn Val Arg Tyr His Thr Thr Gly Met 420 425 430

Ile Glu Gly Thr Ala Glu Val Phe Ser Arg Leu Asn Glu Val Ser Lys
435 440 445

Ala Ala Ser Lys Met Gly Lys Ala Gln 450 455

<210> 33

<211> 3598

290

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> Sequenz stellt eine pflanzliche

Promotor-Terminator-Expressionskassette in Vektor pUC19 dar

<400> 33

tcgcgcgttt cggtgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacggtca 60 cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcagggcgcg tcagcgggtg 120 ttggcgggtg tcggggctgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc 180 accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgcc 240 attcgccatt caggctgcgc aactgttggg aagggcgatc ggtgcgggcc tcttcgctat 300 tacgccagct ggcgaaaggg ggatgtgctg caaggcgatt aagttgggta acgccagggt 360 tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cggcgcgccg agctcctcga 420 gcaaatttac acattgccac taaacgtcta aacccttgta atttgttttt gttttactat 480 gtgtgttatg tatttgattt gcgataaatt tttatatttg gtactaaatt tataacacct 540 tttatgctaa cgtttgccaa cacttagcaa tttgcaagtt gattaattga ttctaaatta 600 tttttgtctt ctaaatacat atactaatca actggaaatg taaatatttg ctaatatttc 660 tactatagga gaattaaagt gagtgaatat ggtaccacaa ggtttggaga tttaattgtt 720 gcaatgctgc atggatggca tatacaccaa acattcaata attcttgagg ataataatgg 780 taccacacaa gatttgaggt gcatgaacgt cacgtggaca aaaggtttag taatttttca 840 agacaacaat gttaccacac acaagttttg aggtgcatgc atggatgccc tgtggaaagt 900 ttaaaaatat tttggaaatg atttgcatgg aagccatgtg taaaaccatg acatccactt 960 ggaggatgca ataatgaaga aaactacaaa tttacatgca actagttatg catgtagtct 1020 atataatgag gattttgcaa tactttcatt catacacact cactaagttt tacacgatta 1080

taatttette atageeagee caeegeggtg ggeggeegee tgeagtetag aaggeeteet 1140 gctttaatga gatatgcgag acgcctatga tcgcatgata tttgctttca attctgttgt 1200 gcacgttgta aaaaacctga gcatgtgtag ctcagatcct taccgccggt ttcggttcat 1260 tctaatgaat atatcacccg ttactatcgt atttttatga ataatattct ccgttcaatt 1320 tactgattgt ccgtcgacga attcgagctc ggcgcgccaa gcttggcgta atcatggtca 1380 tagctgtttc ctgtgtgaaa ttgttatccg ctcacaattc cacacaacat acgagccgga 1440 agcataaagt gtaaagcctg gggtgcctaa tgagtgagct aactcacatt aattgcgttg 1500 cgctcactgc ccgctttcca gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta atgaatcggc 1560 caacgcgcgg ggagaggcgg tttgcgtatt gggcgctctt ccgcttcctc gctcactgac 1620 tegetgeget eggtegtteg getgeggega geggtateag eteaeteaaa ggeggtaata 1680 cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa 1740 aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct ccgccccct 1800 gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac aggactataa 1860 agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc gaccctgccg 1920 cttaccggat acctgtccgc ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttc tcatagctca 1980 cgctgtaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgctcca agctgggctg tgtgcacgaa 2040 cccccgttc agcccgaccg ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga gtccaacccg 2100 gtaagacacg acttatcgcc actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg 2160 tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tggtggccta actacggcta cactagaagg 2220 acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc 2280

tcttgatccg gcaaacaaac caccgctggt agcggtggtt tttttgtttg caagcagcag 2340 attacgcgca gaaaaaagg atctcaagaa gatcctttga tcttttctac ggggtctgac 2400 gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggtca tgagattatc aaaaaggatc 2460 ttcacctaga tccttttaaa ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag 2520 taaacttggt ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt 2580 ctatttcgtt catccatagt tgcctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag 2640 ggcttaccat ctggccccag tgctgcaatg ataccgcgag acccacgctc accggctcca 2700 gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcctgcaact 2760 ttatccgcct ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca 2820 gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc acgctcgtcg 2880 tttggtatgg cttcattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatccccc 2940 atgttgtgca aaaaagcggt tagctccttc ggtcctccga tcgttgtcag aagtaagttg 3000 geogeagtgt tateacteat ggttatggea geactgeata attetettae tgteatgeea 3060 tccgtaagat gcttttctgt gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt 3120 atgcggcgac cgagttgctc ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc 3180 agaactttaa aagtgctcat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc 3240 ttaccgctgt tgagatccag ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca 3300 tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa 3360 aagggaataa gggcgacacg gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat 3420 tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa 3480

aataaacaaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa 3540 accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttcgtc 3598

<210> 34

<211> 3590

<212> DNA .

<213> Unknown

<220>

<223> Sequenz stellt eine pflanzliche
 Promotor-Terminator-Expressionskassette in Vektor
 pUC19 dar

<400> 34
tcgcgcgttt cggtgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacggtca 60
cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcaggggcg tcagcgggtg 120
ttggcgggtg tcggggctgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc 180
accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgcc 240
attcgccatt caggctgcg aactgttggg aagggcgatc ggtgcgggcc tcttcgctat 300
tacgccagct ggcgaaaggg ggatgtgctg caaggcgatt aagttgggta acgccagggt 360
tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cggcgcgccg agctcctcga 420
gcaaatttac acattgccac taaacgtcta aacccttgta atttgtttt gttttactat 480
gtgtgttatg tatttgattt gcgataaatt tttatatttg gtactaaatt tataacacct 540
tttatgctaa cgttgccaa cacttagcaa tttgcaagtt gattaattga ttctaaatta 600
tttttgtctt ctaaaatacat atactaatca actggaaatg taaatatttg ctaatatttc 660
tactatagga gaattaaagt gagtgaatat ggtaccacaa ggtttggaga tttaattgtt 720

# WO 03/093482 PCT/EP03/04297 90

gcaatgctgc atggatggca tatacaccaa acattcaata attcttgagg ataataatgg 780 taccacacaa gatttgaggt gcatgaacgt cacgtggaca aaaggtttag taatttttca 840 agacaacaat gttaccacac acaagttttg aggtgcatgc atggatgccc tgtggaaagt 900 ttaaaaatat tttggaaatg atttgcatgg aagccatgtg taaaaccatg acatccactt 960 ggaggatgca ataatgaaga aaactacaaa tttacatgca actagttatg catgtagtct 1020 atataatgag gattttgcaa tactttcatt catacacact cactaagttt tacacgatta 1080 taatttette atageeageg gateegatat egggeeeget agegttaace etgetttaat 1140 gagatatgcg agacgcctat gatcgcatga tatttgcttt caattctgtt gtgcacgttg 1200 taaaaaacct gagcatgtgt agctcagatc cttaccgccg gtttcggttc attctaatga 1260 atatatcacc cgttactatc gtattttat gaataatatt ctccgttcaa tttactgatt 1320 gtccgtcgac gaattcgagc tcggcgcgcc aagcttggcg taatcatggt catagctgtt 1380 tectgtgtga aattgttate egeteacaat tecacacaae atacgageeg gaageataaa 1440 gtgtaaagcc tggggtgcct aatgagtgag ctaactcaca ttaattgcgt tgcgctcact 1500 gcccgctttc cagtcgggaa acctgtcgtg ccagctgcat taatgaatcg gccaacgcgc 1560 ggggagagge ggtttgcgta ttgggcgctc ttccgcttcc tcgctcactg actcgctgcg 1620 ctcggtcgtt cggctgcggc gagcggtatc agctcactca aaggcggtaa tacggttatc 1680 cacagaatca ggggataacg caggaaagaa catgtgagca aaaggccagc aaaaggccag 1740 gaaccgtaaa aaggccgcgt tgctggcgtt tttccatagg ctccgcccc ctgacgagca 1800 tcacaaaaat cgacgctcaa gtcagaggtg gcgaaacccg acaggactat aaagatacca 1860 ggcgtttccc cctggaagct ccctcgtgcg ctctcctgtt ccgaccctgc cgcttaccgg 1920

atacctgtcc gcctttctcc cttcgggaag cgtggcgctt tctcatagct cacgctgtag 1980 gtatctcagt teggtgtagg tegttegete caagetggge tgtgtgcaeg aaceeceegt 2040 tcagcccgac cgctgcgcct tatccggtaa ctatcgtctt gagtccaacc cggtaagaca 2100 cgacttatcg ccactggcag cagccactgg taacaggatt agcagagcga ggtatgtagg 2160 cggtgctaca gagttcttga agtggtggcc taactacggc tacactagaa ggacagtatt 2220 tggtatctgc gctctgctga agccagttac cttcggaaaa agagttggta gctcttgatc 2280 cggcaaacaa accaccgctg gtagcggtgg ttttttttgtt tgcaagcagc agattacgcg 2340 cagaaaaaa ggatctcaag aagatccttt gatcttttct acggggtctg acgctcagtg 2400 gaacgaaaac tcacgttaag ggattttggt catgagatta tcaaaaagga tcttcaccta 2460 gatcctttta aattaaaaat gaagttttaa atcaatctaa agtatatatg agtaaacttg 2520 gtotgacagt taccaatgot taatcagtga ggcacctato toagogatot gtotatttog 2580 ttcatccata gttgcctgac tccccgtcgt gtagataact acgatacggg agggcttacc 2640 atctggcccc agtgctgcaa tgataccgcg agacccacgc tcaccggctc cagatttatc 2700 agcaataaac cagccagccg gaagggccga gcgcagaagt ggtcctgcaa ctttatccgc 2760 ctccatccag tctattaatt gttgccggga agctagagta agtagttcgc cagttaatag 2820 tttgcgcaac gttgttgcca ttgctacagg catcgtggtg tcacgctcgt cgtttggtat 2880. ggcttcattc agctccggtt cccaacgatc aaggcgagtt acatgatccc ccatgttgtg 2940 caaaaaagcg gttagctcct tcggtcctcc gatcgttgtc agaagtaagt tggccgcagt 3000 gttatcactc atggttatgg cagcactgca taattctctt actgtcatgc catccgtaag 3060 atgettttet gtgaetggtg agtaeteaae caagteatte tgagaatagt gtatgeggeg 3120

accgagttge tettgeeegg egteaataeg ggataataee gegeeacata geagaacttt 3180
aaaagtgete ateattggaa aaegttette ggggegaaaa eteteaagga tettaeeget 3240
gttgagatee agttegatgt aaeceaeteg tgeaeeeaae tgatetteag eatetttae 3300
ttteaceage gtttetgggt gageaaaaae aggaaggeaa aatgeegeaa aaaagggaat 3360
aagggegaca eggaaatgtt gaataeteat aetetteett ttteaatatt attgaageat 3420
ttateagggt tattgtetea tgageggata eatatttgaa tgtatttaga aaaataaaea 3480
aataggggtt eegegeacat tteeeegaaa agtgeeacet gaegtetaag aaaecattat 3540
tateatgaca ttaaeetata aaaataggeg tateaegagg eeetttegte 3590

<210> 35

<211> 3584

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> Sequenz stellt eine pflanzliche
 Promotor-Terminator-Expressionskassette in Vektor
 pUC19 dar

<400> 35

tegegegttt eggtgatgac ggtgaaaacc tetgacacat geageteeeg gagaeggtea 60
cagettgtet gtaageggat geegggagea gacaageeeg teagggegeg teagegggtg 120
ttggegggtg teggggetgg ettaactatg eggeateaga geagattgta etgagagtge 180
accatatgeg gtgtgaaata eegeacagat gegtaaggag aaaatacege ateaggegee 240
attegeeatt eaggetgege aactgttggg aagggegate ggtgegggee tettegetat 300
taegeeaget ggegaaaggg ggatgtgetg eaaggegatt aagttgggta aegeeagggt 360

tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cggcgcgccg agctcctcga 420 gcaaatttac acattgccac taaacgtcta aacccttgta atttgttttt gttttactat 480 gtgtgttatg tatttgattt gcgataaatt tttatatttg gtactaaatt tataacacct 540 tttatgctaa cgtttgccaa cacttagcaa tttgcaagtt gattaattga ttctaaatta 600 tttttgtctt ctaaatacat atactaatca actggaaatg taaatatttg ctaatatttc 660 tactatagga gaattaaagt gagtgaatat ggtaccacaa ggtttggaga tttaattgtt 720 gcaatgctgc atggatggca tatacaccaa acattcaata attcttgagg ataataatgg 780 taccacacaa gatttgaggt gcatgaacgt cacgtggaca aaaggtttag taatttttca 840 agacaacaat gttaccacac acaagttttg aggtgcatgc atggatgccc tgtggaaagt 900 ttaaaaatat tttggaaatg atttgcatgg aagccatgtg taaaaccatg acatccactt 960 ggaggatgca ataatgaaga aaactacaaa tttacatgca actagttatg catgtagtct 1020 atataatgag gattttgcaa tactttcatt catacacact cactaagttt tacacgatta 1080 taatttette atageeagea gatetgeegg categateee gggeeatgge etgetttaat 1140 gagatatgcg agacgcctat gatcgcatga tatttgcttt caattctgtt gtgcacgttg 1200 taaaaaacct gagcatgtgt agctcagatc cttaccgccg gtttcggttc attctaatga 1260 atatatcacc cgttactatc gtatttttat gaataatatt ctccgttcaa tttactgatt 1320 gtccgtcgac gagctcggcg cgccaagctt ggcgtaatca tggtcatagc tgtttcctgt 1380 gtgaaattgt tatccgctca caattccaca caacatacga gccggaagca taaagtgtaa 1440 agcctggggt gcctaatgag tgagctaact cacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc 1500 tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 1560

aggeggtttg egtattggge getetteege tteetegete aetgaetege tgegeteggt 1620 cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 1680 atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 1740 taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc cccctgacg agcatcacaa 1800 aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 1860 tececetgga ageteceteg tgegetetee tgtteegaee etgeegetta eeggataeet 1920 gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 1980 cagtteggtg taggtegtte getecaaget gggetgtgtg cacgaacece cegtteagee 2040 cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 2100 atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 2160 tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaaggacag tatttggtat 2220 ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 2280 acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 2340 aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 2400 aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 2460 tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 2520 cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 2580 catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat aactacgata cgggagggct taccatctgg 2640 ccccagtgct gcaatgatac cgcgagaccc acgctcaccg gctccagatt tatcagcaat 2700 aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgcag aagtggtcct gcaactttat ccgcctccat 2760

ccagtctatt aattgttgcc gggaagctag agtaagtagt tcgccagtta atagtttgcg 2820 caacgttgtt gccattgcta caggcatcgt ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggcttc 2880 attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg agttacatga tcccccatgt tgtgcaaaaa 2940 ageggttage teetteggte etcegategt tgteagaagt aagttggeeg eagtgttate 3000 actcatggtt atggcagcac tgcataattc tcttactgtc atgccatccg taagatgctt 3060 ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag 3120 ttgctcttgc ccggcgtcaa tacgggataa taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt 3180 gctcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg aaaactctca aggatcttac cgctgttgag 3240 atccagttcg atgtaaccca ctcgtgcacc caactgatct tcagcatctt ttactttcac 3300 cagcgtttct gggtgagcaa aaacaggaag gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc 3360 gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt cctttttcaa tattattgaa gcatttatca 3420 gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt tgaatgtatt tagaaaaata aacaaatagg 3480 ggttccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc acctgacgtc taagaaacca ttattatcat 3540 3584 gacattaacc tataaaaata ggcgtatcac gaggcccttt cgtc

<210> 36

<211> 4507

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> Sequenz stellt eine pflanzliche
 Promotor-Terminator-Expressionskassette in Vektor
 pUC19 dar

tegegegttt eggtgatgac ggtgaaaace tetgacacat geageteeeg gagaeggtea 60 cagettgtet gtaageggat geegggagea gacaageeeg teagggegeg teagegggtg 120 ttggcgggtg tcggggctgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc 180 accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgcc 240 attegecatt caggetgege aactgttggg aagggegate ggtgegggee tettegetat 300 tacgccagct ggcgaaaggg ggatgtgctg caaggcgatt aagttgggta acgccagggt 360 tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cggcgcgccg agctcctcga 420 gcaaatttac acattgccac taaacgtcta aacccttgta atttgttttt gttttactat 480 gtgtgttatg tatttgattt gcgataaatt tttatatttg gtactaaatt tataacacct 540 tttatgctaa cgtttgccaa cacttagcaa tttgcaagtt gattaattga ttctaaatta 600 tttttgtctt ctaaatacat atactaatca actggaaatg taaatatttg ctaatatttc 660 tactatagga gaattaaagt gagtgaatat ggtaccacaa ggtttggaga tttaattgtt 720 gcaatgctgc atggatggca tatacaccaa acattcaata attcttgagg ataataatgg 780 taccacacaa gatttgaggt gcatgaacgt cacgtggaca aaaggtttag taatttttca 840 agacaacaat gttaccacac acaagttttg aggtgcatgc atggatgccc tgtggaaagt 900 ttaaaaatat tttggaaatg atttgcatgg aagccatgtg taaaaccatg acatccactt 960 ggaggatgca ataatgaaga aaactacaaa tttacatgca actagttatg catgtagtct 1020 atataatgag gattttgcaa tactttcatt catacacact cactaagttt tacacgatta 1080 taatttette atageeagee cacegeggtg ggeggeegee tgeagtetag aaggeeteet 1140 gctttaatga gatatgcgag acgcctatga tcgcatgata tttgctttca attctgttgt 1200

gcacgttgta aaaaacctga gcatgtgtag ctcagatcct taccgccggt ttcggttcat 1260 tctaatgaat atatcacccg ttactatcgt atttttatga ataatattct ccgttcaatt 1320 tactgattgt ccgtcgagca aatttacaca ttgccactaa acgtctaaac ccttgtaatt 1380 tgtttttgtt ttactatgtg tgttatgtat ttgatttgcg ataaattttt atatttggta 1440 ctaaatttat aacacctttt atgctaacgt ttgccaacac ttagcaattt gcaagttgat 1500 taattgattc taaattattt ttgtcttcta aatacatata ctaatcaact ggaaatgtaa 1560 atatttgcta atatttctac tataggagaa ttaaagtgag tgaatatggt accacaaggt 1620 ttggagattt aattgttgca atgctgcatg gatggcatat acaccaaaca ttcaataatt 1680 cttgaggata ataatggtac cacacaagat ttgaggtgca tgaacgtcac gtggacaaaa 1740 ggtttagtaa tttttcaaga caacaatgtt accacacaca agttttgagg tgcatgcatg 1800 gatgccctgt ggaaagttta aaaatatttt ggaaatgatt tgcatggaag ccatgtgtaa 1860 aaccatgaca tccacttgga ggatgcaata atgaagaaaa ctacaaattt acatgcaact 1920 agttatgcat gtagtctata taatgaggat tttgcaatac tttcattcat acacactcac 1980 taagttttac acgattataa tttcttcata gccagcggat ccgatatcgg gcccgctagc 2040 gttaaccctg ctttaatgag atatgcgaga cgcctatgat cgcatgatat ttgctttcaa 2100 ttctgttgtg cacgttgtaa aaaacctgag catgtgtagc tcagatcctt accgccggtt 2160 tcggttcatt ctaatgaata tatcacccgt tactatcgta tttttatgaa taatattctc 2220 cgttcaattt actgattgtc cgtcgacgaa ttcgagctcg gcgcgccaag cttggcgtaa 2280 tcatggtcat agctgtttcc tgtgtgaaat tgttatccgc tcacaattcc acacaacata 2340 cgagccggaa gcataaagtg taaagcctgg ggtgcctaat gagtgagcta actcacatta 2400

attgcgttgc gctcactgcc cgctttccag tcgggaaacc tgtcgtgcca gctgcattaa 2460 tgaatcggcc aacgcgcggg gagaggcggt ttgcgtattg ggcgctcttc cgcttcctcg 2520 ctcactgact cgctgcgctc ggtcgttcgg ctgcggcgag cggtatcagc tcactcaaag 2580 gcggtaatac ggttatccac agaatcaggg gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa 2640 ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc 2700 cgccccctg acgagcatca caaaaatcga cgctcaagtc agaggtggcg aaacccgaca 2760 ggactataaa gataccaggc gtttccccct ggaagctccc tcgtgcgctc tcctgttccg 2820 accetgeege ttaceggata cetgteegee ttteteeett egggaagegt ggegetttet 2880 catagctcac gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt 2940 gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc tgcgccttat ccggtaacta tcgtcttgag 3000 tccaacccgg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag ccactggtaa caggattagc 3060 agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac 3120 actagaagga cagtatttgg tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga 3180 gttggtagct cttgatccgg caaacaaacc accgctggta gcggtggttt ttttgtttgc 3240 aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaagga tctcaagaag atcctttgat cttttctacg 3300 gggtctgacg ctcagtggaa cgaaaactca cgttaaggga ttttggtcat gagattatca 3360 aaaaggatct tcacctagat ccttttaaat taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt 3420 atatatgagt aaacttggtc tgacagttac caatgcttaa tcagtgaggc acctatctca 3480 gcgatctgtc tatttcgttc atccatagtt gcctgactcc ccgtcgtgta gataactacg 3540 atacgggagg gcttaccatc tggccccagt gctgcaatga taccgcgaga cccacgctca 3600 ccggctccag atttatcagc aataaaccag ccagccggaa gggccgageg cagaagtggt 3660 cctgcaactt tatccgcctc catccagtct attaattgtt gccgggaagc tagagtaagt 3720 agttcgccag ttaatagttt gcgcaacgtt gttgccattg ctacaggcat cgtggtgtca 3780 cyclogtegt tiggtatgge ticaticage teeggiteee aacgateaag gegagitaca 3840 tgatececca tgttgtgeaa aaaageggtt ageteetteg gteeteegat egttgteaga 3900 agtaagttgg ccgcagtgtt atcactcatg gttatggcag cactgcataa ttctcttact 3960 gtcatgccat ccgtaagatg cttttctgtg actggtgagt actcaaccaa gtcattctga 4020 gaatagtgta tgcggcgacc gagttgctct tgcccggcgt caatacggga taataccgcg 4080 ccacatagca gaactttaaa agtgctcatc attggaaaac gttcttcggg gcgaaaactc 4140 tcaaggatct taccgctgtt gagatccagt tcgatgtaac ccactcgtgc acccaactga 4200 tcttcagcat cttttacttt caccagcgtt tctgggtgag caaaaacagg aaggcaaaat 4260 gccgcaaaaa agggaataag ggcgacacgg aaatgttgaa tactcatact cttccttttt 4320 caatattatt gaagcattta tcagggttat tgtctcatga gcggatacat atttgaatgt 4380 atttagaaaa ataaacaaat aggggttccg cgcacatttc cccgaaaagt gccacctgac 4440 gtctaagaaa ccattattat catgacatta acctataaaa ataggcgtat cacgaggccc 4500 4507 tttcgtc

<210> 37

<211> 5410

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> Sequenz stellt eine pflanzliche

Promotor-Terminator-Expressionskassette in Vektor pUC19 dar

<400> 37 ttttggaaat gatttgcatg gaagccatgt gtaaaaccat gacatccact tggaggatgc 60 aataatgaag aaaactacaa atttacatgc aactagttat gcatgtagtc tatataatga 120 ggattttgca atactttcat tcatacacac tcactaagtt ttacacgatt ataatttctt 180 catagccage ggatecgata tegggeeege tagegttaac eetgetttaa tgagatatge 240 gagacgccta tgatcgcatg atatttgctt tcaattctgt tgtgcacgtt gtaaaaaacc 300 tgagcatgtg tagctcagat ccttaccgcc ggtttcggtt cattctaatg aatatatcac 360 ccgttactat cgtattttta tgaataatat tctccgttca atttactgat tgtccgtcga 420 gcaaatttac acattgccac taaacgtcta aacccttgta atttgttttt gttttactat 480 gtgtgttatg tatttgattt gcgataaatt tttatatttg gtactaaatt tataacacct 540 tttatgctaa cgtttgccaa cacttagcaa tttgcaagtt gattaattga ttctaaatta 600 tttttgtctt ctaaatacat atactaatca actggaaatg taaatatttg ctaatatttc 660 tactatagga gaattaaagt gagtgaatat ggtaccacaa ggtttggaga tttaattgtt 720 gcaatgctgc atggatggca tatacaccaa acattcaata attcttgagg ataataatgg 780 taccacacaa gatttgaggt gcatgaacgt cacgtggaca aaaggtttag taatttttca 840 agacaacaat gttaccacac acaagttttg aggtgcatgc atggatgccc tgtggaaagt 900 ttaaaaatat tttggaaatg atttgcatgg aagccatgtg taaaaccatg acatccactt 960 ggaggatgca ataatgaaga aaactacaaa tttacatgca actagttatg catgtagtct 1020 atataatgag gattttgcaa tactttcatt catacacact cactaagttt tacacgatta 1080

taatttcttc atagccagca gatctgccgg catcgatccc gggccatggc ctgctttaat 1140 gagatatgcg agacgcctat gatcgcatga tatttgcttt caattctgtt gtgcacgttg 1200 taaaaaacct gagcatgtgt agctcagatc cttaccgccg gtttcggttc attctaatga 1260 atatatcacc cgttactatc gtatttttat gaataatatt ctccgttcaa tttactgatt 1320 qtccgtcgac gagctcggcg cgccaagctt ggcgtaatca tggtcatagc tgtttcctgt 1380 gtgaaattgt tatccgctca caattccaca caacatacga gccggaagca taaagtgtaa 1440 agectggggt gectaatgag tgagetaact cacattaatt gegttgeget cactgeeege 1500 tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 1560 aggeggtttg cgtattggge getetteege tteetegete actgaetege tgegeteggt 1620 cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 1680 atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 1740 taaaaaggee gegttgetgg egttttteea taggeteege eeecetgaeg ageateacaa 1800 aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 1860 teceetgga ageteeteg tgegetetee tgtteegace etgeegetta eeggataeet 1920 gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 1980 cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc 2040 cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 2100 atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 2160 tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaaggacag tatttggtat 2220 ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 2280

acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 2340 aaaaggatet caagaagate etttgatett ttetaegggg tetgaegete agtggaaega 2400 aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 2460 tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 2520 cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 2580 catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat aactacgata cgggagggct taccatctgg 2640 ccccagtgct gcaatgatac cgcgagaccc acgctcaccg gctccagatt tatcagcaat 2700 aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgcag aagtggtcct gcaactttat ccgcctccat 2760 ccagtctatt aattgttgcc gggaagctag agtaagtagt tcgccagtta atagtttgcg 2820 caacgttgtt gccattgcta caggcatcgt ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggcttc 2880 attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg agttacatga tcccccatgt tgtgcaaaaa 2940 ageggttage teetteggte etcegategt tgteagaagt aagttggeeg eagtgttate 3000 actcatggtt atggcagcac tgcataattc tcttactgtc atgccatccg taagatgctt 3060 ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag 3120 ttgctcttgc ccggcgtcaa tacgggataa taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt 3180 gctcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg aaaactctca aggatcttac cgctgttgag 3240 atccagttcg atgtaaccca ctcgtgcacc caactgatct tcagcatctt ttactttcac 3300 cagcgtttct gggtgagcaa aaacaggaag gcaaaatgcc gcaaaaaaagg gaataagggc 3360 gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt cctttttcaa tattattgaa gcatttatca 3420 gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt tgaatgtatt tagaaaaata aacaaatagg 3480

ggttccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc acctgacgtc taagaaacca ttattatcat 3540 gacattaacc tataaaaata ggcgtatcac gaggcccttt cgtctcgcgc gtttcggtga 3600 tgacggtgaa aacctctgac acatgcagct cccggagacg gtcacagctt gtctgtaagc 3660 ggatgccggg agcagacaag cccgtcaggg cgcgtcagcg ggtgttggcg ggtgtcgggg 3720 ctggcttaac tatgcggcat cagagcagat tgtactgaga gtgcaccata tgcggtgtga 3780 aataccgcac agatgcgtaa ggagaaaata ccgcatcagg cgccattcgc cattcaggct 3840 gcgcaactgt tgggaagggc gatcggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa 3900 agggggatgt gctgcaaggc gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg 3960 ttgtaaaacg acggccagtg aattcggcgc gccgagctcc tcgagcaaat ttacacattg 4020 ccactaaacg tctaaaccct tgtaatttgt ttttgtttta ctatgtgtgt tatgtatttg 4080 atttgcgata aatttttata tttggtacta aatttataac accttttatg ctaacgtttg 4140 ccaacactta gcaatttgca agttgattaa ttgattctaa attatttttg tcttctaaat 4200 acatatacta atcaactgga aatgtaaata tttgctaata tttctactat aggagaatta 4260 aagtgagtga atatggtacc acaaggtttg gagatttaat tgttgcaatg ctgcatggat 4320 ggcatataca ccaaacattc aataattctt gaggataata atggtaccac acaagatttg 4380 aggtgcatga acgtcacgtg gacaaaaggt ttagtaattt ttcaagacaa caatgttacc 4440 acacacaagt tttgaggtgc atgcatggat gccctgtgga aagtttaaaa atattttgga 4500 aatgatttgc atggaagcca tgtgtaaaac catgacatcc acttggagga tgcaataatg 4560 aagaaaacta caaatttaca tgcaactagt tatgcatgta gtctatataa tgaggatttt 4620 gcaatacttt cattcataca cactcactaa gttttacacg attataattt cttcatagcc 4680

agcccaccgc ggtgggcggc cgcctgcagt ctagaaggcc tcctgcttta atgagatatg 4740 cgagacgcct atgatcgcat gatatttgct ttcaattctg ttgtgcacgt tgtaaaaaac 4800 ctgagcatgt gtagctcaga tccttaccgc cggtttcggt tcattctaat gaatatatca 4860 cccgttacta tcgtattttt atgaataata ttctccgttc aatttactga ttgtccgtcg 4920 agcaaattta cacattgcca ctaaacgtct aaacccttgt aatttgtttt tgttttacta 4980 tgtgtgttat gtatttgatt tgcgataaat ttttatattt ggtactaaat ttataacacc 5040 ttttatgcta acgtttgcca acacttagca atttgcaagt tgattaattg attctaaatt 5100 atttttgtct tctaaataca tatactaatc aactggaaat gtaaatattt gctaatattt 5160 ctactatagg agaattaaag tgagtgaata tggtaccaca aggtttggag atttaattgt 5220 tgcaatgctg catggatggc atatacacca aacattcaat aattcttgag gataataatg 5280 gtaccacaca agatttgagg tgcatgaacg tcacgtggac aaaaggttta gtaatttttc 5340 aagacaacaa tgttaccaca cacaagtttt gaggtgcatg catggatgcc ctgtggaaag 5400 tttaaaaata 5410

<220>

<223> pflanzlicher Expressionsvektor mit einer Promotor-Terminator-Expressionskassette

<400> 38

gatctggcgc cggccagcga gacgagcaag attggccgcc gcccgaaacg atccgacagc 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120

<210> 38

<211> 12093

<212> DNA

<213> Unknown

tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcgca ggaggcccgg cagcaccggc 180 ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcaggggt 240 atgttgggtt tcacgtctgg cctccggacc agcctccgct ggtccgattg aacgcgcgga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgccct ggacctgttg aacgaggtcg 420 gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagcgggcgc tgctcgacgc actggccgaa gccatgctgg 540 cggagaatca tacgcattcg gtgccgagag ccgacgacga ctggcgctca tttctgatcg 600 ggaatgcccg cagcttcagg caggcgctgc tcgcctaccg cgatggcgcg cgcatccatg 660 ceggeacgeg acegggegea cegeagatgg aaacggeega egegeagett egetteetet 720 gegaggeggg ttttteggee ggggaegeeg teaatgeget gatgaeaate agetaettea 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840 ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900 ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960 ggaggetegt tgteaggaac gttgaaggac egagaaaggg tgaegattga teaggaeege 1020 tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctccccttt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140 ccaageetea eggeeget eggeetetet ggeggeette tggegetett eegetteete 1200 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320

aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccetgeeg ettaceggat acetgteege ettteteeet tegggaageg tggegetttt 1560 ccgctgcata accctgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620 tcgcacgata tacaggattt tgccaaaggg ttcgtgtaga ctttccttgg tgtatccaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagece acetateaag gtgtactgee ttecagaega aegaagageg attgaggaaa 1920 aggeggegge ggeeggeatg ageetgtegg cetacetget ggeegtegge cagggetaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tccgcgagct ggcccgcatc aatggcgacc 2040 tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100 teggtgatge caegateete geeetgetgg egaagatega agagaageag gaegagettg 2160 gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220 aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttcgcgg agctggtgaa gtacatcacc gacgagcaag gcaagaccga gcgcctttgc 2340 gacgeteace gggetggttg ecetegeege tgggetggeg geegtetatg geeetgeaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgaggggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520

cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagctggcca gcctcgcaaa tcggcgaaaa cgcctgattt tacgcgagtt tcccacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820 ccgcccgttt ttcggccacc gctaacctgt cttttaacct gcttttaaac caatatttat 2880 aaaccttgtt tttaaccagg gctgcgccct gtgcgcgtga ccgcgcacgc cgaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgcgcccctc ggccgcgaac ggcctcaccc caaaaatggc agcgctggca gtccttgcca 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 geggeetggg tggeggeetg ceetteactt eggeegtegg ggeatteacg gaetteatgg 3240 cggggccggc aatttttacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300 tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360 gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420 ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatat ttttatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatttcaggg 3540 ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720

tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 gcagctttcc cttcaggcgg gattcataca gcggccagcc atccgtcatc catatcacca 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacgtgcgc aacaaccgtc ttccggagac tgtcatacgc gtaaaacagc cagcgctggc 4020 gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attttctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440 tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500 aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560 cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620 taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740 aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920

gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte actecatega catateggat tgteectata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg attttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220 gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tegetggtat tegtgeaggg caagattegg aataccaagt aegagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640 ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700 cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760 cgacgcgggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820 geocegegaa acettecagt cegteggete gatggtecag caagetaegg ceaagatega 5880gegegaeage gtgeaactgg etceecetge cetgeeegeg ceateggeeg eegtggageg 5940 ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag tcgatgacca tcgacacgcg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120

ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccgctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420 ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 cacgtccgac cgcgttgggc acctggaatc ggtgtcgctg ctgcaccgct tccgcgtcct 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aaccttccgc ctcatgtgcg gatcggattc cacccgcgtg aagaagtggc gcgagcaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840 tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900 agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960 tcagtatcgc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020 ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140 cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgete acaaggegea tetgteegge gttttegtgg agecegaaca gegaggeega 7320

ggggtcgccg gtatgctgct gcgggcgttg ccggcgggtt tattgctcgt gatgatcgtc 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tcgctattct ggagcttgtt gtttatttcg gtctaccgcc tgccgggcgg ggtcgcggcg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcgggcct ggcgggggcg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttcctt tggttccggg ggatctcgcg actcgaacct 7920 acagttgttt ccttactggg ctttctcagc cccagatctg gggtcgatca gccggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040 aggggagttg atategteaa egtteaette taaagaaata gegeeaetea getteeteag 8100 cggctttatc cagcgatttc ctattatgtc ggcatagttc tcaagatcga cagcctgtca 8160 cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220 tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccgtgt ttcaaacccg gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340 gagcaaagtc tgccgcctta caacggctct cccgctgacg ccgtcccgga ctgatgggct 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520

gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820 tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agcccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gateggtgeg ggcetetteg etattacgee agetggegaa agggggatgt getgeaagge 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tecaageaaa aacataaatt tattgatgea agtttaaatt eagaaatatt 9240 tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300 tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcgggggatc cgtcgaagct 9360 agettgggte eegeteagaa gaactegtea agaaggegat agaaggegat gegetgegaa 9420 tegggagegg egatacegta aageaegagg aageggteag eccattegee gecaagetet 9480 tcagcaatat cacgggtagc caacgctatg tcctgatagc ggtccgccac acccagccgg 9540 ccacagtega tgaatecaga aaageggeea ttttecacea tgatattegg caageaggea 9600 tegecatggg teacgaegag atectegeeg tegggeatge gegeettgag eetggegaae 9660 agtteggetg gegegageee etgatgetet tegteeagat cateetgate gacaagaceg 9720

gcttccatce gagtacgtgc tegetegatg egatgttteg ettggtggte gaatgggeag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tcccttcccg cttcagtgac aacgtcgagc acagctgcgc aaggaacgcc cgtcgtggcc 9960 agccacgata geogegetge etegteetge agtteattea gggcacegga caggteggte 10020 ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa getcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440 gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500 gcgccatcag atccttggcg gcaagaaagc catccagttt actttgcagg gcttcccaac 10560 cttaccagag ggcgccccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620 gtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttgtc cagatagccc agtagctgac attcatccgg ggtcagcacc gtttctgcgg 10740 actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 gegtgaaget tgeatgeetg caggtegaeg gegegeegag etectegage aaatttacae 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920

tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 ggatggcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220 tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacaca aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagccca ccgcggtggg cggccgcctg cagtctagaa ggcctcctgc tttaatgaga 11580 tatgcgagac gcctatgatc gcatgatatt tgctttcaat tctgttgtgc acgttgtaaa 11640 aaacctgagc atgtgtagct cagatcctta ccgccggttt cggttcattc taatgaatat 11700 atcacccgtt actatcgtat ttttatgaat aatattctcc gttcaattta ctgattgtcc 11760 gtcgacgaat tcgagctcgg cgcgcctcta gaggatcgat gaattcagat cggctgagtg 11820 gctccttcaa cgttgcggtt ctgtcagttc caaacgtaaa acggcttgtc ccgcgtcatc 11880 ggcgggggtc ataacgtgac tcccttaatt ctccgctcat gatcagattg tcgtttcccg 11940 ccttcagttt aaactatcag tgtttgacag gatatattgg cgggtaaacc taagagaaaa 12000 gagcgtttat tagaataatc ggatatttaa aagggcgtga aaaggtttat ccttcgtcca 12060 12093 tttgtatgtg catgccaacc acagggttcc cca

<210> 39

<211> 12085

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> pflanzlicher Expressionsvektor mit einer Promotor-Terminator-Expressionskassette

<400> 39 gatctggcgc cggccagcga gacgagcaag attggccgcc gcccgaaacg atccgacagc 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120 tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcgca ggaggcccgg cagcaccggc 180 ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcaggggt 240 atgttgggtt tcacgtctgg cctccggacc agcctccgct ggtccgattg aacgcgcgga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgccct ggacctgttg aacgaggtcg 420 gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagcgggcgc tgctcgacgc actggccgaa gccatgctgg 540 cggagaatca tacgcattcg gtgccgagag ccgacgacga ctggcgctca tttctgatcg 600 ggaatgcccg cagcttcagg caggcgctgc tcgcctaccg cgatggcgcg cgcatccatg 660 ccggcacgcg accgggcgca ccgcagatgg aaacggccga cgcgcagctt cgcttcctct 720 gcgaggcggg tttttcggcc ggggacgccg tcaatgcgct gatgacaatc agctacttca 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcgaca 840

ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900 ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960 ggaggctcgt tgtcaggaac gttgaaggac cgagaaaggg tgacgattga tcaggaccgc 1020 tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctccccttt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140 ccaagectea eggeegeet eggeetetet ggeggeette tggegetett eegetteete 1200 gctcactgac tegetgeget eggtegtteg getgeggega geggtateag etcactcaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttt 1560 ccgctgcata accctgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatccttt 1620 tcgcacgata tacaggattt tgccaaaggg ttcgtgtaga ctttccttgg tgtatccaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagccc acctatcaag gtgtactgcc ttccagacga acgaagagcg attgaggaaa 1920 aggeggegge ggeeggeatg ageetgtegg cetacetget ggeegtegge cagggetaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tccgcgagct ggcccgcatc aatggcgacc 2040

tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100 teggtgatge caegateete geeetgetgg egaagatega agagaageag gaegagettg 2160 gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220 aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttcgcgg agctggtgaa gtacatcacc gacgagcaag gcaagaccga gcgcctttgc 2340 gacgeteace gggetggttg ecetegeege tgggetggeg geegtetatg geeetgeaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgaggggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520 cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagetggeca geetegeaaa teggegaaaa egeetgattt taegegagtt teeeacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820 ccgcccgttt ttcggccacc gctaacctgt cttttaacct gcttttaaac caatatttat 2880 aaaccttgtt tttaaccagg gctgcgccct gtgcgcgtga ccgcgcacgc cgaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgcgcccctc ggccgcgaac ggcctcaccc caaaaatggc agcgctggca gtccttgcca 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 geggeetggg tggeggeetg ceetteactt eggeegtegg ggeatteaeg gaetteatgg 3240

cggggccggc aatttttacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300 tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360 gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420 ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatatc ttttatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatttcaggg 3540 ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720 tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 geagetttee etteaggegg gatteataea geggeeagee ateegteate catateacea 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacgtgcgc aacaaccgtc ttccggagac tgtcatacgc gtaaaacagc cagcgctggc 4020 gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attitctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440

tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500 aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560 cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620 taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740 aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920 gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte actecatega catateggat tgteectata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg attttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220 gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tcgctggtat tcgtgcaggg caagattcgg aataccaagt acgagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640

ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700 cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760 cgacgcgggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820 geceegegaa acetteeagt eegteggete gatggteeag caagetaegg ecaagatega 5880 gegegacage gtgeaactgg etececetge cetgeeegeg ceateggeeg eegtggageg 5940 ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag tcgatgacca tcgacacgcg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120 ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccgctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420 ceggtattac acgaaggeeg aggaatgeet gtegegeeta caggegaegg egatgggett 6480 caegteegae egegttggge acetggaate ggtgtegetg etgeaeeget teegegteet 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aaccttccgc ctcatgtgcg gatcggattc cacccgcgtg aagaagtggc gcgagcaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840

tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg,ggggttcagc 6900 agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960 tcagtatcgc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020 ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140 cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgctc acaaggcgca tctgtccggc gttttcgtgg agcccgaaca gcgaggccga 7320 ggggtcgccg gtatgctgct gcgggcgttg ccggcgggtt tattgctcgt gatgatcgtc 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tcgctattct ggagcttgtt gtttatttcg gtctaccgcc tgccgggcgg ggtcgcggcg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcgggcct ggcgggggcg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttcctt tggttccggg ggatctcgcg actcgaacct 7920 acagttgttt ccttactggg ctttctcagc cccagatctg gggtcgatca gccggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040

aggggagttg atatcgtcaa cgttcacttc taaagaaata gcgccactca gcttcctcag 8100 cggctttatc cagcgatttc ctattatgtc ggcatagttc tcaagatcga cagcctgtca 8160 cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220 tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccgtgt ttcaaacccg gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340 gagcaaagtc tgccgcctta caacggctct cccgctgacg ccgtcccgga ctgatgggct 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520 gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820 tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gatcggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa agggggatgt gctgcaaggc 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tccaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240

tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300 tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcggggggatc cgtcgaagct 9360 agettgggte eegeteagaa gaactegtea agaaggegat agaaggegat gegetgegaa 9420 tegggagegg egatacegta aageaegagg aageggteag eecattegee gecaagetet 9480 tcagcaatat cacgggtagc caacgctatg tcctgatagc ggtccgccac acccagccgg 9540 ccacagtcga tgaatccaga aaagcggcca ttttccacca tgatattcgg caagcaggca 9600 tcgccatggg tcacgacgag atcctcgccg tcgggcatgc gcgccttgag cctggcgaac 9660 agttcggctg gcgcgagccc ctgatgctct tcgtccagat catcctgatc gacaagaccg 9720 gettecatee gagtaegtge tegetegatg egatgttteg ettggtggte gaatgggeag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tecetteceg etteagtgae aacgtegage acagetgege aaggaaegee egtegtggee 9960 agccacgata gccgcgctgc ctcgtcctgc agttcattca gggcaccgga caggtcggtc 10020 ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440

gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500 gcgccatcag atccttggcg gcaagaaagc catccagttt actttgcagg gcttcccaac 10560 cttaccagag ggcgccccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620 gtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttgtc cagatagccc agtagctgac attcatccgg ggtcagcacc gtttctgcgg 10740 actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 gcgtgaagct tgcatgcctg caggtcgacg gcgcgccgag ctcctcgagc aaatttacac 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920 tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 ggatggcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220 tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacaca aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagcgga tccgatatcg ggcccgctag cgttaaccct gctttaatga gatatgcgag 11580 acgcctatga tcgcatgata tttgctttca attctgttgt gcacgttgta aaaaacctga 11640

gcatgtgtag ctcagatect tacegeeggt tteggtteat tetaatgaat atateaceeg 11700

ttactategt attittatga ataatattet cegtteaatt tactgattgt cegtegaega 11760

attegagete ggegegeete tagaggateg atgaatteag ateggetgag tggeteette 11820

aaeggtgegg ttetgteagt tecaaaeggta aaaeggettg teeegegtea teggeggggg 11880

teataaegtg acteeettaa tteteegete atgateagat tgtegttee egeetteagt 11940

ttaaaetate agtgttgae aggatatat ggegggtaaa eetaaggaa aagaegttt 12000

attagaataa teggatatt aaaagggegt gaaaaggtt ateettegte catttgtatg 12060

tgeatgeeaa ceacagggtt eeea 12085

<220>

<400> 40

gatctggcgc cggccagcga gacgagcaag attggccgcc gcccgaaacg atccgacagc 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120 tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcgca ggaggcccgg cagcaccggc 180 ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcaggggt 240 atgttgggtt tcacgtctgg cctccggacc agcctccgct ggtccgattg aacgcgcgga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgcct ggacctgttg aacgaggtcg 420

<210> 40

<211> 12079

<212> DNA

<213> Unknown

gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagcgggcgc tgctcgacgc actggccgaa gccatgctgg 540 cggagaatca tacgcattcg gtgccgagag ccgacgacga ctggcgctca tttctgatcg 600 ggaatgcccg cagcttcagg caggcgctgc tcgcctaccg cgatggcgcg cgcatccatg 660 ccggcacgcg accgggcgca ccgcagatgg aaacggccga cgcgcagctt cgcttcctct 720 gegaggeggg titteggee ggggaegeeg teaatgeget gatgaeaate agetaettea 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840 ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900 ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960 ggaggctcgt tgtcaggaac gttgaaggac cgagaaaggg tgacgattga tcaggaccgc 1020 tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctccccttt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140 ccaagcctca cggccgcgct cggcctctct ggcggccttc tggcgctctt ccgcttcctc 1200 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ecgccccct gacgagcate acaaaaateg acgeteaagt cagaggtgge gaaacecgae 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccetgeeg ettaceggat acetgteege ettteteeet tegggaageg tggegetttt 1560 ccgctgcata accctgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620

togcacgata tacaggattt tgccaaaggg ttcgtgtaga ctttccttgg tgtatccaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagece acetateaag gtgtactgee ttecagaega aegaagageg attgaggaaa 1920 aggeggegge ggeeggeatg ageetgtegg cetacetget ggeegtegge cagggetaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tccgcgagct ggcccgcatc aatggcgacc 2040 tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100 tcggtgatgc cacgatcctc gccctgctgg cgaagatcga agagaagcag gacgagcttg 2160 gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220 aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttcgcgg agctggtgaa gtacatcacc gacgagcaag gcaagaccga gcgcctttgc 2340 gacgeteace gggetggttg eectegeege tgggetggeg geegtetatg geeetgeaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgaggggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520 cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagctggcca gcctcgcaaa tcggcgaaaa cgcctgattt tacgcgagtt tcccacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820

ccgcccgttt ttcggccacc gctaacctgt cttttaacct gcttttaaac caatatttat 2880 aaaccttgtt tttaaccagg gctgcgccct gtgcgcgtga ccgcgcacgc cgaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgegeeeete ggeegegaae ggeeteaeee caaaaatgge agegetggea gteettgeea 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 geggeetggg tggeggeetg ceetteactt eggeegtegg ggeatteaeg gaetteatgg 3240 cggggccggc aattittacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300 tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360 gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420 ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatat ttttatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatttcaggg 3540 ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720 tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 gcagctttcc cttcaggcgg gattcataca gcggccagcc atccgtcatc catatcacca 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacytycyc aacaaccytc ttccygagac tytcatacyc ytaaaacayc caycyctyyc 4020

gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attttctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440 tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500 aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560 cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620 taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740 aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920 gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte actecatega catateggat tgteectata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg attttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220

gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tcgctggtat tcgtgcaggg caagattcgg aataccaagt acgagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640 ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700 cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760 cgacgcgggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820 gccccgcgaa accttccagt ccgtcggctc gatggtccag caagctacgg ccaagatcga 5880 gcgcgacagc gtgcaactgg ctccccctgc cctgcccgcg ccatcggccg ccgtggagcg 5940 ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag tcgatgacca tcgacacgcg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120 ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccgctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420

ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 cacgtccgac cgcgttgggc acctggaatc ggtgtcgctg ctgcaccgct tccgcgtcct 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aaccttccgc ctcatgtgcg gatcggattc cacccgcgtg aagaagtggc gcgagcaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840 tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900 agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960 tcagtatcgc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020 ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140 cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgete acaaggegea tetgteegge gttttegtgg ageeegaaca gegaggeega 7320 ggggtcgccg gtatgctgct gcgggcgttg ccggcgggtt tattgctcgt gatgatcgtc 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tegetattet ggagettgtt gtttattteg gtetacegee tgeegggegg ggtegeggeg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620

gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcgggcct ggcgggggg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttcctt tggttccggg ggatctcgcg actcgaacct 7920 acagttgttt cettactggg ettteteage eecagatetg gggtegatea geeggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040 aggggagttg atategteaa egtteaette taaagaaata gegeeaetea getteeteag 8100 eggetttate cagegattte etattatgte ggeatagtte teaagatega eageetgtea 8160 cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220 tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccgtgt ttcaaacccg gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340 gagcaaagte tgeegeetta caaeggetet ceegetgaeg eegteeegga etgatggget 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520 gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820

tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000. gatcggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa agggggatgt gctgcaaggc 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tccaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240 tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300 tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcggggggatc cgtcgaagct 9360 agcttgggtc ccgctcagaa gaactcgtca agaaggcgat agaaggcgat gcgctgcgaa 9420 tcgggagcgg cgataccgta aagcacgagg aagcggtcag cccattcgcc gccaagctct 9480 tcagcaatat cacgggtagc caacgctatg tcctgatagc ggtccgccac acccagccgg 9540 ccacagtcga tgaatccaga aaagcggcca ttttccacca tgatattcgg caagcaggca 9600 tegecatggg teaegaegag atectegeeg tegggeatge gegeettgag eetggegaae 9660 agttcggctg gcgcgagccc ctgatgctct tcgtccagat catcctgatc gacaagaccg 9720 gcttccatcc gagtacgtgc tcgctcgatg cgatgtttcg cttggtggtc gaatgggcag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tecetteeeg etteagtgae aacgtegage acagetgege aaggaaegee egtegtggee 9960 agecaegata geegegetge etegteetge agtteattea gggeaeegga caggteggte 10020

ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440 gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500 gegecateag atecttggeg geaagaaage cateeagttt aetttgeagg getteecaae 10560 cttaccagag ggcgccccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620 gtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttgtc cagatagccc agtagctgac attcatccgg ggtcagcacc gtttctgcgg 10740 actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 gcgtgaaget tgcatgcctg caggtcgacg gcgcgccgag ctcctcgagc aaatttacac 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920 tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 ggatggcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220

tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacaca aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagcaga tctgccggca tcgatcccgg gccatggcct gctttaatga gatatgcgag 11580 acgcctatga tcgcatgata tttgctttca attctgttgt gcacgttgta aaaaacctga 11640 gcatgtgtag ctcagatcct taccgccggt ttcggttcat tctaatgaat atatcacccg 11700 ttactatcgt attittatga ataatattct ccgttcaatt tactgattgt ccgtcgacga 11760 gctcggcgcg cctctagagg atcgatgaat tcagatcggc tgagtggctc cttcaacgtt 11820 geggttetgt cagtteeaaa egtaaaaegg ettgteege gteateggeg ggggteataa 11880 cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc agattgtcgt ttcccgcctt cagtttaaac 11940 tatcagtgtt tgacaggata tattggcggg taaacctaag agaaaagagc gtttattaga 12000 ataatcggat atttaaaagg gcgtgaaaag gtttatcctt cgtccatttg tatgtgcatg 12060 12079 ccaaccacag ggttcccca

<210> 41

<211> 13002

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> pflanzlicher Expressionsvektor mit zwei
 Promotor-Terminator-Expressionskassetten

<400> 41

gatetggege eggeeagega gaegageaag attggeegee geeegaaaeg ateegaeage 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120 tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcgca ggaggcccgg cagcaccggc 180 ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcaggggt 240 atgttgggtt tcacgtctgg cctccggacc agcctccgct ggtccgattg aacgcgcgga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgccct ggacctgttg aacgaggtcg 420 gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagegggege tgetegaege aetggeegaa geeatgetgg 540 cggagaatca tacgcattcg gtgccgagag ccgacgacga ctggcgctca tttctgatcg 600 ggaatgcccg cagcttcagg caggcgctgc tcgcctaccg cgatggcgcg cgcatccatg 660 ccggcacgcg accgggcgca ccgcagatgg aaacggccga cgcgcagctt cgcttcctct 720 gcgaggcggg tttttcggcc ggggacgccg tcaatgcgct gatgacaatc agctacttca 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840 cegttgaaca ggctccgctc tegecgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900 ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960 ggaggctcgt tgtcaggaac gttgaaggac cgagaaaggg tgacgattga tcaggaccgc 1020 tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctccccttt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140

ccaageetea eggeegete eggeetetet ggeggeette tggegetett eegetteete 1200 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccetgeeg ettaceggat acetgteege ettteteeet tegggaageg tggegetttt 1560 ccgctgcata accctgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620 tcgcacgata tacaggattt tgccaaaggg ttcgtgtaga ctttccttgg tgtatccaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagccc acctatcaag gtgtactgcc ttccagacga acgaagagcg attgaggaaa 1920 aggeggegge ggeeggeatg ageetgtegg cetacetget ggeegtegge cagggetaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tccgcgagct ggcccgcatc aatggcgacc 2040 tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100 teggtgatge caegateete geeetgetgg egaagatega agagaageag gaegagettg 2160 gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220 aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttcgcgg agctggtgaa gtacatcacc gacgagcaag gcaagaccga gcgcctttgc 2340

gacgctcacc gggctggttg ccctcgccgc tgggctggcg gccgtctatg gccctgcaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgaggggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520 cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagetggeea geetegeaaa teggegaaaa egeetgattt taegegagtt teecacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820 ecgecegttt tteggecace getaacetgt ettttaacet gettttaaac caatatttat 2880 aaaccttgtt tttaaccagg gctgcgccct gtgcgcgtga ccgcgcacgc cgaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgcgcccctc ggccgcgaac ggcctcaccc caaaaatggc agcgctggca gtccttgcca 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 gcggcctggg tggcggcctg cccttcactt cggccgtcgg ggcattcacg gacttcatgg 3240 cggggccggc aatttttacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300 tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360 gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420 ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatat ttttatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatttcaggg 3540

ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact .aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720 tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 gcagctttcc cttcaggcgg gattcataca gcggccagcc atccgtcatc catatcacca 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacgtgcgc aacaaccgtc ttccggagac tgtcatacgc gtaaaacagc cagcgctggc 4020 gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attttctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440 tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500 aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560 cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620 taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740

aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920 gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte actecatega catateggat tgteeetata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg attttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220 gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tcgctggtat tcgtgcaggg caagattcgg aataccaagt acgagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640 ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700 cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760 cgacgegggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820 gccccgcgaa accttccagt ccgtcggctc gatggtccag caagctacgg ccaagatcga 5880 gegegacage gtgcaactgg etececetge cetgeeegeg ecateggeeg eegtggageg 5940

ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag tcgatgacea tcgacacgcg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120 ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccqctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420 ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 cacgteegae egegttggge acetggaate ggtgtegetg etgeaeeget teegegteet 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aacctteege etcatgtgeg gateggatte caccegegtg aagaagtgge gegageaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840 tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900 agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960 tcagtatcgc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020 ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140

cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgete acaaggegea tetgteegge gttttegtgg ageeegaaca gegaggeega 7320 ggggtegeeg gtatgetget gegggegttg eeggegggtt tattgetegt gatgategte 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tegetattet ggagettgtt gtttattteg gtetaeegee tgeegggegg ggtegeggeg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcgggcct ggcgggggg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctactteett tggtteeggg ggatetegeg actegaacet 7920 acagttgttt cettactggg ettteteage eecagatetg gggtegatea geeggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040 aggggagttg atatcgtcaa cgttcacttc taaagaaata gcgccactca gcttcctcag 8100 cggctttatc cagcgatttc ctattatgtc ggcatagttc tcaagatcga cagcctgtca 8160 cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220 tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 teateegtgt tteaaaceeg geagettagt tgeegttett eegaatagea teggtaacat 8340

gagcaaagtc tgccgcctta caacggctct cccgctgacg ccgtcccgga ctgatgggct 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520 gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 qcaqqcqaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagece gagatagggt tgagtgttgt tecagtttgg aacaagagte cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820 tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agcccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gateggtgeg ggeetetteg etattaegee agetggegaa agggggatgt getgeaagge 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tccaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240 tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300 tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcggggggatc cgtcgaagct 9360 agcttgggtc ccgctcagaa gaactcgtca agaaggcgat agaaggcgat gcgctgcgaa 9420 tcgggagcgg cgataccgta aagcacgagg aagcggtcag cccattcgcc gccaagctct 9480 tcagcaatat cacgggtagc caacgctatg tcctgatagc ggtccgccac acccagccgg 9540

ccacagtcga tgaatccaga aaagcggcca ttttccacca tgatattcgg caagcaggca 9600 tegecatggg teaegacgag atectegeeg tegggeatge gegeettgag eetggegaae 9660 agtteggetg gegegagece etgatgetet tegtecagat cateetgate gacaagaeeg 9720 gcttccatcc gagtacgtgc tcgctcgatg cgatgtttcg cttggtggtc gaatgggcag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tecetteecg etteagtgae aacgtegage acagetgege aaggaaegee egtegtggee 9960 agccacgata gccgcgctgc ctcgtcctgc agttcattca gggcaccgga caggtcggtc 10020 ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt geggttetgt cagttecaaa egtaaaaegg ettgteeege 10440 gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500 gcgccatcag atccttggcg gcaagaaagc catccagttt actttgcagg gcttcccaac 10560 cttaccagag ggcgccccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620 gtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttgtc cagatagccc agtagctgac attcatccgg ggtcagcacc gtttctgcgg 10740

actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 gcgtgaagct tgcatgcctg caggtcgacg gcgcgccgag ctcctcgagc aaatttacac 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920 tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 ggatggcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220 tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacacac aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagccca ccgcggtggg cggccgcctg cagtctagaa ggcctcctgc tttaatgaga 11580 tatgcgagac gcctatgatc gcatgatatt tgctttcaat tctgttgtgc acgttgtaaa 11640 aaacctgagc atgtgtagct cagatcctta ccgccggttt cggttcattc taatgaatat 11700 atcacccgtt actatcgtat ttttatgaat aatattctcc gttcaattta ctgattgtcc 11760 gtcgagcaaa tttacacatt gccactaaac gtctaaaccc ttgtaatttg tttttgtttt 11820 actatgtgtg ttatgtattt gatttgcgat aaatttttat atttggtact aaatttataa 11880 caccttttat gctaacgttt gccaacactt agcaatttgc aagttgatta attgattcta 11940

aattattttt gtcttctaaa tacatatact aatcaactgg aaatgtaaat atttgctaat 12000 atttctacta taggagaatt aaagtgagtg aatatggtac cacaaggttt ggagatttaa 12060 ttgttgcaat gctgcatgga tggcatatac accaaacatt caataattct tgaggataat 12120 aatggtacca cacaagattt gaggtgcatg aacgtcacgt ggacaaaagg tttagtaatt 12180 tttcaagaca acaatgttac cacacacaag ttttgaggtg catgcatgga tgccctgtgg 12240 aaagtttaaa aatattttgg aaatgatttg catggaagcc atgtgtaaaa ccatgacatc 12300 cacttggagg atgcaataat gaagaaaact acaaatttac atgcaactag ttatgcatgt 12360 agtctatata atgaggattt tgcaatactt tcattcatac acactcacta agttttacac 12420 gattataatt tetteatage cageggatee gatateggge eegetagegt taaecetget 12480 ttaatgagat atgcgagacg cctatgatcg catgatattt gctttcaatt ctgttgtgca 12540 cgttgtaaaa aacctgagca tgtgtagctc agatccttac cgccggtttc ggttcattct 12600 aatgaatata tcacccgtta ctatcgtatt tttatgaata atattctccg ttcaatttac 12660 tgattgtccg tcgacgaatt cgagctcggc gcgcctctag aggatcgatg aattcagatc 12720 ggctgagtgg ctccttcaac gttgcggttc tgtcagttcc aaacgtaaaa cggcttgtcc 12780 cgcgtcatcg gcgggggtca taacgtgact cccttaattc tccgctcatg atcagattgt 12840 cgtttcccgc cttcagttta aactatcagt gtttgacagg atatattggc gggtaaacct 12900 aagagaaaag agcgtttatt agaataatcg gatatttaaa agggcgtgaa aaggtttatc 12960 13002 cttcgtccat ttgtatgtgc atgccaacca cagggttccc ca

<210> 42

<211> 13905

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> pflanzlicher Expressionsvektor mit drei
Promotor-Terminator-Expressionskassetten

<400> 42 gatctggcgc cggccagcga gacgagcaag attggccgcc gcccgaaacg atccgacagc 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120 tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcgca ggaggcccgg cagcaccggc 180 ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcaggggt 240 atgttgggtt tcacgtctgg cctccggacc agcctccgct ggtccgattg aacgcgcgga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgccct ggacctgttg aacgaggtcg 420 gegtagaegg tetgaegaea egeaaaetgg eggaaeggtt gggggtteag eageeggege 480 tttactggca cttcaggaac aagcgggcgc tgctcgacgc actggccgaa gccatgctgg 540 cggagaatca tacgcattcg gtgccgagag ccgacgacga ctggcgctca tttctgatcg 600 ggaatgeeeg cagetteagg caggegetge tegeetaeeg egatggegeg egeateeatg 660 ccggcacgcg accgggcgca ccgcagatgg aaacggccga cgcgcagctt cgcttcctct 720 gcgaggcggg tttttcggcc ggggacgccg tcaatgcgct gatgacaatc agctacttca 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840 ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900 ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960

ggaggctcgt tgtcaggaac gttgaaggac cgagaaaggg tgacgattga tcaggaccgc 1020

tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctccccttt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140 ccaagcctca eggeegett eggeetetet ggeggeette tggegetett eegetteete 1200 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccetgeeg ettaceggat acetgteege ettteteet tegggaageg tggegetttt 1560 ccgctgcata accctgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620 tegeacgata tacaggattt tgeeaaaggg ttegtgtaga ettteettgg tgtateeaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagccc acctatcaag gtgtactgcc ttccagacga acgaagagcg attgaggaaa 1920 aggeggegge ggeeggeatg ageetgtegg cetacetget ggeegtegge cagggetaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tccgcgagct ggcccgcatc aatggcgacc 2040 tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100 teggtgatge caegateete geeetgetgg egaagatega agagaageag gaegagettg 2160 gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgactttt tagccgctaa 2220

aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttcgcgg agctggtgaa gtacatcacc gacgagcaag gcaagaccga gcgcctttgc 2340 gacgeteace gggetggttg ecetegeege tgggetggeg geegtetatg geeetgeaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgaggggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520 cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagctggcca gcctcgcaaa tcggcgaaaa cgcctgattt tacgcgagtt tcccacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820 ecgecegttt tteggecace getaacetgt ettttaacet gettttaaac caatatttat 2880 aaacettgtt tttaaccagg getgegeect gtgegegtga eegegeaege egaagggggg 2940 tgececect tetegaacee teeeggeeeg etaacgeggg ceteceatee eeceagggge 3000 tgegeeete ggeegegaae ggeeteaeee caaaaatgge agegetggea gteettgeea 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 geggeetggg tggeggeetg ceetteactt eggeegtegg ggeatteaeg gaetteatgg 3240 cggggccggc aatttttacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300 tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360 gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420

ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatat ttttatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatttcaggg 3540 ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720 tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 gcagetttee etteaggegg gatteataea geggeeagee ateegteate catateacea 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacgtgcgc aacaaccgtc ttccggagac tgtcatacgc gtaaaacagc cagcgctggc 4020 gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attttctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440 tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500 aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560 cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620

taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740 aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920 gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte actecatega catateggat tgteectata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg attttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220 gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tcgctggtat tcgtgcaggg caagattcgg aataccaagt acgagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640 ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700 cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760 cgacgcgggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820

gccccgcgaa accttccagt ccgtcggctc gatggtccag caagctacgg ccaagatcga 5880 gcgcgacagc gtgcaactgg ctccccctgc cctgcccgcg ccatcggccg ccgtggagcg 5940 ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag tcgatgacca tcgacacgcg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120 ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccgctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420 ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 cacgtccgac cgcgttgggc acctggaatc ggtgtcgctg ctgcaccgct tccgcgtcct 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aacetteege eteatgtgeg gateggatte caeeegegtg aagaagtgge gegageaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840 tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900 agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960 tcagtatcgc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020

ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140 cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgete acaaggegea tetgteegge gttttegtgg ageeegaaca gegaggeega 7320 ggggtegeeg gtatgetget gegggegttg eeggegggtt tattgetegt gatgategte 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tegetattet ggagettgtt gtttattteg gtetaeegee tgeegggegg ggtegeggeg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcgggcct ggcgggggcg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttectt tggtteeggg ggatetegeg actegaacet 7920 acagttgttt cettactggg ettteteage eecagatetg gggtegatea geeggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040 aggggagttg atatcgtcaa cgttcacttc taaagaaata gcgccactca gcttcctcag 8100 eggetttate cagegattte etattatgte ggeatagtte teaagatega eageetgtea 8160 cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220

tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccgtgt ttcaaacccg gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340 gagcaaagtc tgccgcctta caacggctct cccgctgacg ccgtcccgga ctgatgggct 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520 gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820 tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agcccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gateggtgeg ggeetetteg etattacgee agetggegaa agggggatgt getgeaagge 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattee catettgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtea 9180 ggtattatag tccaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240 tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300 tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcgggggatc cgtcgaagct 9360 agettgggte cegeteagaa gaactegtea agaaggegat agaaggegat gegetgegaa 9420

tegggagegg egatacegta aageaegagg aageggteag eecattegee geeaagetet 9480 tcagcaatat cacgggtagc caacgctatg tcctgatagc ggtccgccac acccagccgg 9540 ccacagtcga tgaatccaga aaagcggcca ttttccacca tgatattcgg caagcaggca 9600 tegecatggg teaegacgag atectegeeg tegggeatge gegeettgag eetggegaac 9660 agttcggctg gcgcgagccc ctgatgctct tcgtccagat catcctgatc gacaagaccg 9720 gcttccatcc gagtacgtgc tcgctcgatg cgatgtttcg cttggtggtc gaatgggcag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tecetteceg etteagtgae aaegtegage aeagetgege aaggaaegee egtegtggee 9960 agccacgata gccgcgctgc ctcgtcctgc agttcattca gggcaccgga caggtcggtc 10020 ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440 gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500 gegecateag atcettggeg geaagaaage catecagttt aetttgeagg getteecaae 10560 cttaccagag ggcgccccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620

gtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttgtc cagatagecc agtagetgac attcateegg ggtcageacc gtttctgegg 10740 actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 gcgtgaaget tgcatgcctg caggtcgacg gcgcgccgag ctcctcgage aaatttacae 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920 tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 ggatggcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220 tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacaca aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagccca ccgcggtggg cggccgcctg cagtctagaa ggcctcctgc tttaatgaga 11580 tatgcgagac gcctatgatc gcatgatatt tgctttcaat tctgttgtgc acgttgtaaa 11640 aaacctgagc atgtgtagct cagatcctta ccgccggttt cggttcattc taatgaatat 11700 atcaccegtt actategtat ttttatgaat aatattetee gtteaattta etgattgtee 11760 gtcgagcaaa tttacacatt gccactaaac gtctaaaccc ttgtaatttg tttttgtttt 11820

actatgtgtg ttatgtattt gatttgcgat aaatttttat atttggtact aaatttataa 11880 caccttttat gctaacgttt gccaacactt agcaatttgc aagttgatta attgattcta 11940 aattattttt gtcttctaaa tacatatact aatcaactgg aaatgtaaat atttgctaat 12000 atttctacta taggagaatt aaagtgagtg aatatggtac cacaaggttt ggagatttaa 12060 ttgttgcaat gctgcatgga tggcatatac accaaacatt caataattct tgaggataat 12120 aatggtacca cacaagattt gaggtgcatg aacgtcacgt ggacaaaagg tttagtaatt 12180 tttcaagaca acaatgttac cacacacag ttttgaggtg catgcatgga tgccctgtgg 12240 aaagtttaaa aatattttgg aaatgatttg catggaagcc atgtgtaaaa ccatgacatc 12300 cacttggagg atgcaataat gaagaaaact acaaatttac atgcaactag ttatgcatgt 12360 agtctatata atgaggattt tgcaatactt tcattcatac acactcacta agttttacac 12420 gattataatt tottoatago cagoggatoo gatatogggo cogotagogt taaccotgot 12480 ttaatgagat atgcgagacg cctatgatcg catgatattt gctttcaatt ctgttgtgca 12540 cgttgtaaaa aacctgagca tgtgtagctc agatccttac cgccggtttc ggttcattct 12600 aatgaatata tcaccegtta ctategtatt tttatgaata atatteteeg tteaatttac 12660 tgattgtccg tcgagcaaat ttacacattg ccactaaacg tctaaaccct tgtaatttgt 12720 ttttgtttta ctatgtgtgt tatgtatttg atttgcgata aatttttata tttggtacta 12780 aatttataac accttttatg ctaacgtttg ccaacactta gcaatttgca agttgattaa 12840 ttgattctaa attatttttg tcttctaaat acatatacta atcaactgga aatgtaaata 12900 tttgctaata tttctactat aggagaatta aagtgagtga atatggtacc acaaggtttg 12960 gagatttaat tgttgcaatg ctgcatggat ggcatataca ccaaacattc aataattctt 13020

gaggataata atggtaccac acaagatttg aggtgcatga acgtcacgtg gacaaaaggt 13080 ttagtaattt ttcaagacaa caatgttacc acacacaagt tttgaggtgc atgcatggat 13140 gccctgtgga aagtttaaaa atattttgga aatgatttgc atggaagcca tgtgtaaaac 13200 catgacatcc acttggagga tgcaataatg aagaaaacta caaatttaca tgcaactagt 13260 tatgcatgta gtctatataa tgaggatttt gcaatacttt cattcataca cactcactaa 13320 gttttacacg attataattt cttcatagcc agcagatctg ccggcatcga tcccgggcca 13380 tggcctgctt taatgagata tgcgagacgc ctatgatcgc atgatatttg ctttcaattc 13440 tgttgtgcac gttgtaaaaa acctgagcat gtgtagctca gatccttacc gccggtttcg 13500 gttcattcta atgaatatat caccegttac tategtattt ttatgaataa tattctccgt 13560 tcaatttact gattgtccgt cgacgagctc ggcgcgcctc tagaggatcg atgaattcag 13620 atcggctgag tggctccttc aacgttgcgg ttctgtcagt tccaaacgta aaacggcttg 13680 tecegegtea teggeggggg teataaegtg acteettaa tteteegete atgateagat 13740 tgtcgtttcc cgccttcagt ttaaactatc agtgtttgac aggatatatt ggcgggtaaa 13800 cctaagagaa aagagcgttt attagaataa tcggatattt aaaagggcgt gaaaaggttt 13860 atccttcgtc catttgtatg tgcatgccaa ccacagggtt cccca 13905

<210> 43

<211> 15430

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> pflanz. Expressionsvektor mit zwei Promotor-Terminator-Expressionskassetten inseriert ist

Physcomitrella patens Elongase und Desaturase

<220>

<221> CDS

<222> (11543)..(12415)

<220>

<221> CDS

<222> (13313)..(14890)

<400> 43

gatctggcgc cggccagcga gacgagcaag attggccgcc gcccgaaacg atccgacagc 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120 tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcgca ggaggcccgg cagcaccggc 180 ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcaggggt 240 atgttgggtt tcacgtctgg cctccggacc agcctccgct ggtccgattg aacgcgcgga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgccct ggacctgttg aacgaggtcg 420 gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagcgggcgc tgctcgacgc actggccgaa gccatgctgg 540 cggagaatca tacgcattcg gtgccgagag ccgacgacga ctggcgctca tttctgatcg 600 ggaatgcccg cagcttcagg caggcgctgc tcgcctaccg cgatggcgcg cgcatccatg 660 ccggcacgcg accgggcgca ccgcagatgg aaacggccga cgcgcagctt cgcttcctct 720 gcgaggcggg tttttcggcc ggggacgccg tcaatgcgct gatgacaatc agctacttca 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840 ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900

ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960 ggaggctcgt tgtcaggaac gttgaaggac cgagaaaggg tgacgattga tcaggaccgc 1020 tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatece etececettt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140 ccaagectca eggeegeet eggeetetet ggeggeette tggegetett eegetteete 1200 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccetgeeg ettaceggat acetgteege ettteteeet tegggaageg tggegetttt 1560 ccgctgcata accctgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620 tegeacgata tacaggattt tgccaaaggg ttegtgtaga ettteettgg tgtatecaae 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagccc acctatcaag gtgtactgcc ttccagacga acgaagagcg attgaggaaa 1920 aggeggegge ggeeggeatg ageetgtegg cetacetget ggeegtegge cagggetaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tecgegaget ggeeegeate aatggegaee 2040 tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100

teggtgatge caegateete geeetgetgg egaagatega agagaageag gaegagettg 2160 gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220 aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttcgcgg agctggtgaa gtacatcacc gacgagcaag gcaagaccga gcgcctttgc 2340 gacgctcacc gggctggttg ccctcgccgc tgggctggcg gccgtctatg gccctgcaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgaggggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520 cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagctggcca gcctcgcaaa tcggcgaaaa cgcctgattt tacgcgagtt tcccacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820 ccgcccgttt ttcggccacc gctaacctgt cttttaacct gcttttaaac caatatttat 2880 aaaccttgtt tttaaccagg gctgcgccct gtgcgcgtga ccgcgcacgc cgaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgcgcccctc ggccgcgaac ggcctcaccc caaaaatggc agcgctggca gtccttgcca 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 geggeetggg tggeggeetg ceetteactt eggeegtegg ggeatteaeg gaetteatgg 3240 cggggccggc aatttttacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300

tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360 gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420 ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatat ttttatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatttcaggg 3540 ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720 tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 gcagctttcc cttcaggcgg gattcataca gcggccagcc atccgtcatc catatcacca 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacgtgcgc aacaaccgtc ttccggagac tgtcatacgc gtaaaacagc cagcgctggc 4020 gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attttctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440 tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500

aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560 cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620 taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740 aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920 gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetette actecatega catateggat tgteectata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg attttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220 gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tcgctggtat tcgtgcaggg caagattcgg aataccaagt acgagaagga 5580 eggecagaeg gtetaeggga eegaetteat tgeegataag gtggattate tggacaecaa 5640 ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700

cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760 cgacgcgggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820 geceegegaa acetteeagt cegteggete gatggteeag caagetaegg ceaagatega 5880 gegegacage gtgcaactgg etececetge cetgeeegeg ecateggeeg eegtggageg 5940 ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag tcgatgacca tcgacacgcg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120 ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccgctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420 ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 caegteegae egegttggge acetggaate ggtgtegetg etgeaeeget teegegteet 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aaccttccgc ctcatgtgcg gatcggattc cacccgcgtg aagaagtggc gcgagcaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840 tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900

agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960 tcagtatcgc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020 ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140 cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgete acaaggegea tetgteegge gttttegtgg ageeegaaca gegaggeega 7320 ggggtcgccg gtatgctgct gcgggcgttg ccggcgggtt tattgctcgt gatgatcgtc 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tcgctattct ggagcttgtt gtttatttcg gtctaccgcc tgccgggcgg ggtcgcggcg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcgggcct ggcgggggcg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttcctt tggttccggg ggatctcgcg actcgaacct 7920 acagttgttt ccttactggg ctttctcagc cccagatctg gggtcgatca gccggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040 aggggagttg atatcgtcaa cgttcacttc taaagaaata gcgccactca gcttcctcag 8100

cggctttatc cagcgatttc ctattatgtc ggcatagttc tcaagatcga cagcctgtca 8160 cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220 tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccgtgt ttcaaacccg gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340 gagcaaagtc tgccgcctta caacggctct cccgctgacg ccgtcccgga ctgatgggct 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520 gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820 tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agcccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gatcggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa agggggatgt gctgcaaggc 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tccaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240 tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300

tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcggggggatc cgtcgaagct 9360 agettgggte cegetcagaa gaactegtea agaaggegat agaaggegat gegetgegaa 9420 tcgggagcgg cgataccgta aagcacgagg aagcggtcag cccattcgcc gccaagctct 9480 tcagcaatat cacgggtagc caacgctatg tcctgatagc ggtccgccac acccagccgg 9540 ccacagtcga tgaatccaga aaagcggcca ttttccacca tgatattcgg caagcaggca 9600 tcgccatggg tcacgacgag atcctcgccg tcgggcatgc gcgccttgag cctggcgaac 9660 agttcggctg gcgcgagccc ctgatgctct tcgtccagat catcctgatc gacaagaccg 9720 gcttccatcc gagtacgtgc tcgctcgatg cgatgtttcg cttggtggtc gaatgggcag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatee tgeeceggea ettegeecaa tageageeag 9900 teeetteeeg etteagtgae aaegtegage acagetgege aaggaaegee egtegtggee 9960 agccacgata gccgcgctgc ctcgtcctgc agttcattca gggcaccgga caggtcggtc 10020 ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440 gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500

gcgccatcag atcettggcg gcaagaaagc catccagttt actttgcagg gcttcccaac 10560 cttaccagag ggcgccccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620 gtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttgtc cagatagece agtagetgae attcateegg ggteageace gtttetgegg 10740 actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 gcgtgaagct tgcatgcctg caggtcgacg gcgcgccgag ctcctcgagc aaatttacac 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920 tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 ggatggcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220 tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacaca aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagccca ccgcggtgga aa atg gag gtc gtg gag aga ttc tac ggt gag 11572 Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu 1 5 10

ttg gat ggg aag gtc tcg cag ggc gtg aat gca ttg ctg ggt agt ttt 11620

Leu Asp Gly Lys Val Ser Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe ggg gtg gag ttg acg gat acg ccc act acc aaa ggc ttg ccc ctc gtt Gly Val Glu Leu Thr Asp Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val gac agt ccc aca ccc atc gtc ctc ggt gtt tct gta tac ttg act att Asp Ser Pro Thr Pro Ile Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile gtc att gga ggg ctt ttg tgg ata aag gcc agg gat ctg aaa ccg cgc Val Ile Gly Gly Leu Leu Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg gec teg gag eca ttt ttg etc caa get ttg gtg ett gtg eac aac etg Ala Ser Glu Pro Phe Leu Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu ttc tgt ttt gcg ctc agt ctg tat atg tgc gtg ggc atc gct tat cag Phe Cys Phe Ala Leu Ser Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln gct att acc tgg cgg tac tct ctc tgg ggc aat gca tac aat cct aaa Ala Ile Thr Trp Arg Tyr Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys cat aaa gag atg gcg att ctg gta tac ttg ttc tac atg tct aag tac His Lys Glu Met Ala Ile Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr gtg gaa ttc atg gat acc gtt atc atg ata ctg aag cgc agc acc agg Val Glu Phe Met Asp Thr Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg caa ata age tte etc cae gtt tat cat cat tet tea att tee etc att Gln Ile Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile 

tgg tgg gct att gct cat cac gct cct ggc ggt gaa gca tat tgg tct

170 Trp Trp Ala Ile Ala His His Ala Pro Gly Gly Glu Ala Tyr Trp Ser 175 180 185 gcg gct ctg aac tca gga gtg cat gtt ctc atg tat gcg tat tac ttc Ala Ala Leu Asn Ser Gly Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe 190 195 200 ttg gct gcc tgc ctt cga agt agc cca aag tta aaa aat aag tac ctt 12196 Leu Ala Ala Cys Leu Arg Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu 205 210 ttt tgg ggc agg tac ttg aca caa ttc caa atg ttc cag ttt atg ctg Phe Trp Gly Arg Tyr Leu Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu 220 225 230 aac tta gtg cag gct tac tac gac atg aaa acg aat gcg cca tat cca 12292 Asn Leu Val Gln Ala Tyr Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro 235 240 245 250 caa tgg ctg atc aag att ttg ttc tac tac atg atc tcg ttg ctg ttt 12340 Gln Trp Leu Ile Lys Ile Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe 255 260 265 ctt ttc ggc aat ttt tac gta caa aaa tac atc aaa ccc tct gac gga 12388 Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly 270 275 280 aag caa aag gga gct aaa act gag tga tctagaaggc ctcctgcttt 12435 Lys Gln Lys Gly Ala Lys Thr Glu 285 290 aatgagatat gcgagacgcc tatgatcgca tgatatttgc tttcaattct gttgtgcacg 12495 ttgtaaaaaa cctgagcatg tgtagctcag atccttaccg ccggtttcgg ttcattctaa 12555 tgaatatatc accepttact ategtatttt tatgaataat atteteegtt caatttactg 12615

attgtccgtc gagcaaattt acacattgcc actaaacgtc taaacccttg taatttgttt 12675

ttgttttact atgtgtgtta tgtatttgat ttgcgataaa tttttatatt tggtactaaa 12735

tttataacac cttttatgct aacgtttgcc aacacttagc aatttgcaag ttgattaatt 12	2795
gattctaaat tatttttgtc ttctaaatac atatactaat caactggaaa tgtaaatatt 12	2855
tgctaatatt tctactatag gagaattaaa gtgagtgaat atggtaccac aaggtttgga 12	2915
gatttaattg ttgcaatgct gcatggatgg catatacacc aaacattcaa taattcttga 12	2975
ggataataat ggtaccacac aagatttgag gtgcatgaac gtcacgtgga caaaaggttt 13	3035
agtaattttt caagacaaca atgttaccac acacaagttt tgaggtgcat gcatggatgc 13	3095
cctgtggaaa gtttaaaaat attttggaaa tgatttgcat ggaagccatg tgtaaaacca 13	3155
tgacatccac ttggaggatg caataatgaa gaaaactaca aatttacatg caactagtta 13	3215
tgcatgtagt ctatataatg aggattttgc aatactttca ttcatacaca ctcactaagt 13	3275
tttacacgat tataatttct tcatagccag cggatcc atg gta ttc gcg ggc ggt 13  Met Val Phe Ala Gly Gly	3330
-	
295	
	3378
	3378
gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att 13	3378
gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att  Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Ile  300 305 310	3378 3426
gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att  Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Ile  300 305 310	
gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Ile 300 305 310  gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc agt tat gtg tct tca act 13	
gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Ile 300 305 310  gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc agt tat gtg tct tca act Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe Ser Tyr Val Ser Ser Thr 315 320 325	
gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Ile 300 305 310  gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc agt tat gtg tct tca act Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe Ser Tyr Val Ser Ser Thr 315 320 325	3426
gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Ile 300 305 310  gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc agt tat gtg tct tca act Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe Ser Tyr Val Ser Ser Thr 315 320 325  gtt ggt tcg tgg agc gta cac agt ata caa cct ttg aag cgc ctg acg 13	3426
gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att  Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Ile 300 305 310  gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc agt tat gtg tct tca act  Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe Ser Tyr Val Ser Ser Thr 315 320 325  gtt ggt tcg tgg agc gta cac agt ata caa cct ttg aag cgc ctg acg  Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln Pro Leu Lys Arg Leu Thr 330 335 340 345	3426 3474
gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Ile 300 305 310  gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc agt tat gtg tct tca act Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe Ser Tyr Val Ser Ser Thr 315 320 325  gtt ggt tcg tgg agc gta cac agt ata caa cct ttg aag cgc ctg acg Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln Pro Leu Lys Arg Leu Thr 330 335 340 345  agt aag aag cgt gtt tcg gaa agc gct gcc gtg caa tgt ata tca gct 13	3426
gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Ile 300 305 310  gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc agt tat gtg tct tca act Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe Ser Tyr Val Ser Ser Thr 315 320 325  gtt ggt tcg tgg agc gta cac agt ata caa cct ttg aag cgc ctg acg Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln Pro Leu Lys Arg Leu Thr 330 335 340 345  agt aag aag cgt gtt tcg gaa agc gct gcc gtg caa tgt ata tca gct Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala Val Gln Cys Ile Ser Ala	3426 3474
gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Ile 300 305 310  gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc agt tat gtg tct tca act Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe Ser Tyr Val Ser Ser Thr 315 320 325  gtt ggt tcg tgg agc gta cac agt ata caa cct ttg aag cgc ctg acg Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln Pro Leu Lys Arg Leu Thr 330 335 340 345  agt aag aag cgt gtt tcg gaa agc gct gcc gtg caa tgt ata tca gct 13	3426 3474

Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly Thr Ala Glu Ala Leu Ala 365 370 375

gaa tca gtc gtg aag ccc acg aga cga agg tca tct cag tgg aag aag 13618 Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg Ser Ser Gln Trp Lys Lys 380 385 390

tcg aca cac ccc cta tca gaa gta gca gta cac aac aag cca agc gat 13666 Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val His Asn Lys Pro Ser Asp 395 400 405

tgc tgg att gtt gta aaa aac aag gtg tat gat gtt tcc aat ttt gcg 13714 Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr Asp Val Ser Asn Phe Ala 410 415 420 425

gac gag cat ccc gga gga tca gtt att agt act tat ttt gga cga gac 13762 Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser Thr Tyr Phe Gly Arg Asp 430 435 440

ggc aca gat gtt ttc tct agt ttt cat gca gct tct aca tgg aaa att 13810 Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala Ala Ser Thr Trp Lys Ile 445 450 455

ctt caa gac ttt tac att ggt gac gtg gag agg gtg gag ccg act cca 13858 Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu Arg Val Glu Pro Thr Pro 460 465 470

gag ctg ctg aaa gat ttc cga gaa atg aga gct ctt ttc ctg agg gag 13906 Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg Ala Leu Phe Leu Arg Glu 475 480 485

caa ctt ttc aaa agt tcg aaa ttg tac tat gtt atg aag ctg ctc acg 13954 Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr Val Met Lys Leu Leu Thr 490 495 500 505

aat gtt gct att ttt gct gcg agc att gca ata ata tgt tgg agc aag 14002 Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala Ile Ile Cys Trp Ser Lys 510 515 520

act att tca gcg gtt ttg gct tca gct tgt atg atg gct ctg tgt ttc 14050

173

Thr	Ile	Ser	Ala	Val	Leu	Ala	Ser	Ala	Cys	Met	Met	Ala	Leu	Cys	Phe	
-			525					530					535			
caa	caq	tgc	gga	taa	cta	tcc	cat	gat	ttt	ctc	cac	aat	cag	gtg	ttt	14098
	_	Cys														
0211	<b>U</b>	540	01,				:545					550				
		340					.545									
~~~	202	cgc	+ ~~	ctt	a a t	<b>722</b>	art.	atc	aaa	tat	ata	atc	aac	220	acc	14146
																14140
GIU		Arg	Trp	Leu	ASII		vai	vai	GIA	TAT		TTE	GIY	ASII	AIG	
	555					560					565					
_	_	ggg	-													14194
Val	Leu	Gly	Phe	Ser	Thr	Gly	Trp	Trp	Lys	Glu	Lys	His	Asn	Leu	His	
570					575					580					585	
cat	gct	gct	cca	aat	gaa	tgc	gat	cag	act	tac	caa	cca	att	gat	gaa	14242
His	Ala	Ala	Pro	Asn	Glu	Cys	Asp	Gln	Thr	Tyr	Gln	Pro	Ile	Asp	Glu	
				590					595					600		
gat	att	gat	act	ctc	ccc	ctc	att	gcc	tgg	agc	aag	gac	ata	ctg	gcc	14290
Asp	Ile	Asp	Thr	Leu	Pro	Leu	Ile	Ala	Trp	Ser	Lys	Asp	Ile	Leu	Ala	
			605					610		•			615			
aca	att	gag	aat	aag	aca	ttc	ttg	cga	atc	ctc	caa	tac	cag	cat	ctg	14338
	_			_				_						_	Leu -	
		620					625					630				
					٠.											
ttc	ttc	atg	aat	cta	tta	+++	ttc	acc	cat	aat	agt	taa	ctc	ttt	taa	14386
		Met	- "													11000
FIIE	635	Mec	Gry	Dea	Deu	640	rne	AIG	ALG	GIY	645	115	Dea	1116	115	
	633					040					047					
																14424
_		_														14434
	Trp	Arg	TYT	Thr		unr	Ата	vaı	Leu		Pro	Val	Asp	Arg		
650					655					660					665	
-		aag														14482
Leu	Glu	Lys	Gly		Val	Leu	Phe	His	Tyr	Phe	Trp	Phe	Val		Thr	
				670					675		•			680		
gcg	tgc	tat	ctt	ctc	cct	ggt	tgg	aag	cca	tta	gta	tgg	atg	gcg	gtg	14530

174

									_							
Ala	Cys	Tyr		Leu	Pro	Gly	Trp	Lys	Pro	Leu	Val	Trp	Met	Ala	Val	
			685					690					695			
act	aaa	ctc	ato	tcc	aac	ato	cta	cta	aac	+++	at a	+++	at a	att	agc	14578
													-		Ser Ser	143/0
1111	O.L.u	700	1100	JCI	CIJ	1100	705	Dea	GLY	1110	V 4.1	710	var	neu	Ser	
cac	aat	ggg	atg	gag	gtt	tat	aat	tcg	tct	aaa	gaa	ttc	gtg	agt	gca	14626
His	Asn	Gly	Met	Glu	Val	Tyr	Asn	Ser	Ser	Lys	Glu	Phe	Val	Ser	Ala	
	715					720					725					
cag	atc	gta	tcc	aca	cgg	gat	atc	aaa	gga	aac	ata	ttc	aac	gac	tgg	14674
	Ile	Val	Ser	Thr		Asp	Ile	Lys	Gly		Ile	Phe	Asn	Asp	_	
730					735					740					745	
ttc	act	aat	aac	ctt	220	acc	Caa	ata	aaa	cat	cat	ctt	ttc	CCB	202	14722
	Thr															14/22
		0_1	1	750		9	02		755					760		
														,		
atg	ccc	agg	cat	aat	tta	aac	aaa	ata	gca	cct	aga	gtg	gag	gtg	ttc	14770
Met	Pro	Arg	His	Asn	Leu	Asn	Lys	Ile	Ala	Pro	Arg	Val	Glu	Val	Phe	
			765					770					775			
tgt	aag	aaa .	cac	ggt	ctg	gtg	tac	gaa	gac	gta	tct	att	gct	acc	ggc	14818
Cys	Lys	-	His	Gly	Leu	Val		Glu	Asp	Val	Ser	Ile	Ala	Thr	Gly	
		780					785					790				
act	tac	220	a++	++~	222	acs	++~	226	~~ =	ata	~~~	~~~	act	~~~	~~~	14866
	tgc Cys															14000
	795	2,2	, , , ,	Dea	<i></i>	800	Deu	Lyc	014	vai	805	914	7124	niu	AIG	
gag	cag	cat	gct	acc	acc	agt	taa	gcta	ıgcgt	ta a	accct	gctt	t aa	atgag	gatat	14920
Glu	Gln	His	Ala	Thr	Thr	Ser										
810					815											
gcga	gacg	rcc t	atga	tcgc	a to	ratat	ttgc	ttt	caat	tct	gttg	gtgca	icg t	tgta	aaaaa	14980
cctg	ragca	tg t	gtag	rctca	g at	cctt	accg	ccg	gttt	cgg	ttca	ttct	aa t	gaat	atatc	15040
2000	att=	ct >	+	a+++	+ +=	tass	+==+	- s++	ctoo	·~+ +	C ==+	++	·+~ -	++~+	ccgtc	15100
	.g.c.ca		Logic			Lyaa	Laal	. all		-yıl	caal	LLac	.ry c	. c c y t	-ccy cc	10100

gacgaattcg agctcggcgc gcctctagag gatcgatgaa ttcagatcgg ctgagtggct 15160 ccttcaacgt tgcggttctg tcagttccaa acgtaaaacg gcttgtcccg cgtcatcggc 15220 gggggtcata acgtgactcc cttaattctc cgctcatgat cagattgtcg tttcccgcct 15280 tcagtttaaa ctatcagtgt ttgacaggat atattggcgg gtaaacctaa gagaaaagag 15340 cgtttattag aataatcgga tatttaaaag ggcgtgaaaa ggtttatcct tcgtccattt 15400 gtatgtgcat gccaaccaca gggttcccca 15430

<210> 44

<211> 290

<212> PRT

<213> Unknown

<400> 44

Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser

1 5 10 15

Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp 20 25 30

Thr Pro Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile 35 40 45

Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu 50 55 60

Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu 65 70 75 80

Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser 85 90 95

Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln Ala Ile Thr Trp Arg Tyr
100 105 110

Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys His Lys Glu Met Ala Ile

Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr Val Glu Phe Met Asp Thr

Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg Gln Ile Ser Phe Leu His

Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile Trp Trp Ala Ile Ala His

His Ala Pro Gly Gly Glu Ala Tyr Trp Ser Ala Ala Leu Asn Ser Gly

Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe Leu Ala Ala Cys Leu Arg

Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu Phe Trp Gly Arg Tyr Leu

Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu Asn Leu Val Gln Ala Tyr

Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile

Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr

Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys

Thr Glu

<210> 45

<211> 525

<212> PRT

<213> Unknown

<400> 45

Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn 1 5 10 15

Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe
20 25 30

Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln
35 40 45

Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala 50 55 60

Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly
65 70 75 80

Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg
85 90 95

Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val
100 105 110

His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr 115 120 125

Asp Val Ser Asn Phe Ala Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser 130 135 140

Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala 145 150 155 160

Ala Ser Thr Trp Lys Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu 165 170 175

Arg Val Glu Pro Thr Pro Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg 180 185 190 178

Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr 195 200 205

Val Met Lys Leu Leu Thr Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala 210 215 220

Ile Ile Cys Trp Ser Lys Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys 225 230 235 240

Met Met Ala Leu Cys Phe Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe 245 250 255

Leu His Asn Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly
260 265 270

Tyr Val Ile Gly Asn Ala Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys 275 280 285

Glu Lys His Asn Leu His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr 290 295 300

Tyr Gln Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp 305 310 315 320

Ser Lys Asp Ile Leu Ala Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile 325 330 335

Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg 340 345 350

Gly Ser Trp Leu Phe Trp Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu 355 360 365

Ser Pro Val Asp Arg Leu Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr 370 375 380

Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro 385 390 395 400

Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly

410

415

179

Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser

420 425 430

405

Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly
435
440
445

Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu 450 455 460

His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala 465 470 475 480

Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp 485 490 495

Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu
500 505 510

Val Ala Glu Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser 515 520 525

<210> 46

<211> 17752

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> pflanz. Expressionsvektor mit 3
 Promotor-Terminator- Expressionskassetten
 inseriert mit Physcomitrella Elongase + Desaturase
 + Phaeodactylum Desaturase

<220>

<221> CDS

<222> (11543)..(12415)

<221> CDS

<222> (13313)..(14890)

<220>

<221> CDS

<222> (15791)..(17200)

<400> 46

gatetggege eggeeagega gaegageaag attggeegee geeegaaaeg ateegaeage 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120 tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcgca ggaggcccgg cagcaccggc 180 ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcaggggt 240 atgttgggtt tcacgtctgg cctccggacc agcctccgct ggtccgattg aacgcgcgga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgccct ggacctgttg aacgaggtcg 420 gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagegggege tgctcgaege actggeegaa gecatgetgg 540 cggagaatca tacgcattcg gtgccgagag ccgacgacga ctggcgctca tttctgatcg 600 ggaatgcccg cagcttcagg caggcgctgc tcgcctaccg cgatggcgcg cgcatccatg 660 ecggeacgeg acegggegea cegeagatgg aaaeggeega egegeagett egetteetet 720 gcgaggcggg tttttcggcc ggggacgccg tcaatgcgct gatgacaatc agctacttca 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840 ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900 ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960

ggaggctcgt tgtcaggaac gttgaaggac cgagaaaggg tgacgattga tcaggaccgc 1020 tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctccccttt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140 ccaagectea eggeeget eggeetetet ggeggeette tggegetett eegetteete 1200 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccetgeeg ettaceggat acetgteege ettteteeet tegggaageg tggegetttt 1560 ccgctgcata accctgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620 tcgcacgata tacaggattt tgccaaaggg ttcgtgtaga ctttccttgg tgtatccaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagece acetateaag gtgtaetgee tteeagaega aegaagageg attgaggaaa 1920 aggcggcggc ggccggcatg agcctgtcgg cctacctgct ggccgtcggc cagggctaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tecgegaget ggeeegeate aatggegaee 2040 tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100 tcggtgatgc cacgatcctc gccctgctgg cgaagatcga agagaagcag gacgagcttg 2160

gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220 aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttegegg agetggtgaa gtacateace gaegageaag geaagaeega gegeetttge 2340 gacgeteace gggetggttg ecetegeege tgggetggeg geegtetatg geeetgeaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgagggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520 cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagctggcca gcctcgcaaa tcggcgaaaa cgcctgattt tacgcgagtt tcccacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820 ccgcccgttt ttcggccacc gctaacctgt cttttaacct gcttttaaac caatatttat 2880 aaaccttgtt tttaaccagg gctgcgccct gtgcgcgtga ccgcgcacgc cgaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgcgcccctc ggccgcgaac ggcctcaccc caaaaatggc agcgctggca gtccttgcca 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 gcggcctggg tggcggcctg cccttcactt cggccgtcgg ggcattcacg gacttcatgg 3240 cggggccggc aatttttacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300 tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360

gtatgaaaac gagaattgga eetttacaga attactetat gaagegeeat atttaaaaag 3420 ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatatc ttttatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatttcaggg 3540 ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720 tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 gcagctttcc cttcaggcgg gattcataca gcggccagcc atccgtcatc catatcacca 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacgtgcgc aacaaccgtc ttccggagac tgtcatacgc gtaaaacagc cagcgctggc 4020 gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attttctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440 tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500 aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560

cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620 taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740 aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920 gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte actecatega catateggat tgteeetata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg atttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220 gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tegetggtat tegtgeaggg caagattegg aataceaagt acgagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640 ggcaccagge gggtcaaate aggaataagg gcacattgee eeggegtgag teggggcaat 5700 cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760

cgacgcgggg :ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820 gccccgcgaa accttccagt ccgtcggctc gatggtccag caagctacgg ccaagatcga 5880 gegegacage gtgeaactgg etecceetge eetgeeegeg ceateggeeg eegtggageg 5940 ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag tcgatgacca tcgacacgcg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120 ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccgctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420 ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 cacgtccgac cgcgttgggc acctggaatc ggtgtcgctg ctgcaccgct tccgcgtcct 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aacetteege etcatgtgeg gateggatte caceegegtg aagaagtgge gegageaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840 tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900 agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960

tcagtatege tegggaegea eggegegete taegaaetge egataaaeag aggattaaaa 7020 ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140 cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgete acaaggegea tetgteegge gttttegtgg ageeegaaca gegaggeega 7320 ggggtcgccg gtatgctgct gcgggcgttg ccggcgggtt tattgctcgt gatgatcgtc 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tegetattet ggagettgtt gtttattteg gtetaeegee tgeeggegg ggtegeggeg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcgggcct ggcgggggcg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttcctt tggttccggg ggatctcgcg actcgaacct 7920 acagttgttt ccttactggg ctttctcagc cccagatctg gggtcgatca gccggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040 aggggagttg atatcgtcaa cgttcacttc taaagaaata gcgccactca gcttcctcag 8100 cggctttatc cagcgatttc ctattatgtc ggcatagttc tcaagatcga cagcctgtca 8160

cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220 tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccgtgt ttcaaacccg gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340 gagcaaagtc tgccgcctta caacggctct cccgctgacg ccgtcccgga ctgatgggct 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520 gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820 tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggggc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gatcggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa agggggatgt gctgcaaggc 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tccaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240 tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300 tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcgggggatc cgtcgaagct 9360

agcttgggtc ccgctcagaa gaactcgtca agaaggcgat agaaggcgat gcgctgcgaa 9420 tcgggagcgg cgataccgta aagcacgagg aagcggtcag cccattcgcc gccaagctct 9480 tcagcaatat cacgggtagc caacgctatg tcctgatagc ggtccgccac acccagccgg 9540 ccacagtcga tgaatccaga aaagcggcca ttttccacca tgatattcgg caagcaggca 9600 tegecatggg teaegacgag atectegeeg tegggeatge gegeettgag eetggegaac 9660 agttcggctg gcgcgagccc ctgatgctct tcgtccagat catcctgatc gacaagaccg 9720 gettecatee gagtacgtge tegetegatg egatgttteg ettggtggte gaatgggeag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tecetteceg etteagtgae aacgtegage acagetgege aaggaaegee egtegtggee 9960 agccacgata gccgcgctgc ctcgtcctgc agttcattca gggcaccgga caggtcggtc 10020 ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440 gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500 gcgccatcag atcettggcg gcaagaaagc catccagttt actttgcagg gcttcccaac 10560

cttaccagag	ggcgccccag	ctggcaattc	cggttcgctt	gctgtccata	aaaccgccca	10620
gtctagctat	cgccatgtaa	gcccactgca	agctacctgc	tttctctttg	cgcttgcgtt	10680
ttcccttgtc	cagatagece	agtagctgac	attcatccgg	ggtcagcacc	gtttctgcgg	10740
actggctttc	tacgtgttcc	gcttccttta	gcagcccttg	cgccctgagt	gcttgcggca	10800
gcgtgaagct	tgcatgcctg	caggtcgacg	gcgcgccgag	ctcctcgagc	aaatttacac	10860
attgccacta	aacgtctaaa	cccttgtaat	ttgtttttgt	tttactatgt	gtgttatgta	10920
tttgatttgc	gataaatttt	tatatttggt	actaaattta	taacaccttt	tatgctaacg	10980
tttgccaaca	cttagcaatt	tgcaagttga	ttaattgatt	ctaaattatt	tttgtcttct	11040
aaatacatat	actaatcaac	tggaaatgta	aatatttgct	aatatttcta	ctataggaga	11100
attaaagtga	gtgaatatgg	taccacaagg	tttggagatt	taattgttgc	aatgctgcat	11160
ggatggcata	tacaccaaac	attcaataat	tcttgaggat	aataatggta	ccacacaaga	11220
tttgaggtgc	atgaacgtca	cgtggacaaa	aggtttagta	atttttcaag	acaacaatgt	11280
taccacacac	aagttttgag	gtgcatgcat	ggatgccctg	tggaaagttt	aaaaatattt	11340
tggaaatgat	ttgcatggaa	gccatgtgta	aaaccatgac	atccacttgg	aggatgcaat	11400
aatgaagaaa	actacaaatt	tacatgcaac	tagttatgca	tgtagtctat,	ataatgagga	11460
ttttgcaata	ctttcattca	tacacactca	ctaagtttta	cacgattata	atttcttcat	11520
agccagccca	ccgcggtgga			aga ttc ta Arg Phe Ty		11572
					10	
		1	5	•	10	

ttg gat ggg aag gtc tcg cag ggc gtg aat gca ttg ctg ggt agt ttt 11620 Leu Asp Gly Lys Val Ser Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe

15 20 25

									1	.90				_		
ggg	gtg	gag	ttg	acg	gat	acg	ccc	act	acc	aaa	ggc	ttg	ccc	ctc	gtt	11668
Gly	Val	Glu	Leu	Thr	Asp	Thr	Pro	Thr	Thr	Lys	Gly	Leu	Pro	Leu	Val	
			30					35					40			
gac	agt	ccc	aca	ccc	atc	gtc	ctc	ggt	gtt	tct	gta	tac	ttg	act	att	11716
Asp	Ser	Pro	Thr	Pro	Ile	Val	Leu	Gly	Val	Ser	Val	Tyr	Leu	Thr	Ile	
		45					50					55				
gtc	att	gga	ggg	ctt	ttg	tgg	ata	aag	gcc	agg	gat	ctg	aaa	ccg	cgc	11764
Val	Ile	Gly	Gly	Leu	Leu	Trp	Ile	Lys	Ala	Arg	Asp	Leu	Lys	Pro	Arg	
	60					65					70					
gcc	tcg	gag	cca	ttt	ttg	ctc	caa	gct	ttg	gtg	ctt	gtg	cac	aac	ctg	11812
Ala	Ser	Glu	Pro	Phe	Leu	Leu	Gln	Ala	Leu	Val	Leu	Val	His	Așn	Leu	
75					80					85					90	
ttc	tgt	ttt	gcg	ctc	agt	ctg	tat	atg	tgc	gtg	ggc	atc	gct	tat	cag	11860
Phe	Cys	Phe	Ala	Leu	Ser	Leu	Tyr	Met	Cys	Val	Gly	Ile	Ala	Tyr	Gln	
				95					100					105		
gct	att	acc	tgg	cgg	tac	tct	ctc	tgg	ggc	aat	gca	tac	aat	cct	aaa	11908
Ala	Ile	Thr	Trp	Arg	Tyr	Ser	Leu	Trp	Gly	Asn	Ala	Tyr	Asn	Pro	Lys	
			110					115					120			
cat	aaa	gag	atg	gcg	att	ctg	gta	tac	ttg	ttc	tac	atg	tct	aag	tac	11956
His	Lys	Glu	Met	Ala	Ile	Leu	Val	Tyr	Leu	Phe	Tyr	Met	Ser	Lys	Tyr	
		125					130					135				
gtg	gaa	ttc	atg	gat	acc	gtt	atc	atg	ata	ctg	aag	cgc	agc	acc	agg	12004
Val	Glu	Phe	Met	Asp	Thr	Val	Ile	Met	Ile	Leu	Lys	Arg	Ser	Thr	Arg	
	140					145					150					
caa	ata	agc	ttc	ctc	cac	gtt	tat	cat	cat	tct	tca	att	tcc	ctc	att	12052
Gln	Ile	Ser	Phe	Leu	His	Val	Tyr	His	His	Ser	Ser	Ile	Ser	Leu	Ile	
155					160					165					170	
	tgg	_					-				-					12100
Trp	Trp	Ala	Ile		His	His	Ala	Pro	Gly	Gly	Glu	Ala	Tyr		Ser	
				175					180					185		

gcg gct ctg aac tca gga gtg cat gtt ctc atg tat gcg tat tac ttc 12	2148
Ala Ala Leu Asn Ser Gly Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe	
190 195 200	
ttg gct gcc tgc ctt cga agt agc cca aag tta aaa aat aag tac ctt. 12	2196
Leu Ala Ala Cys Leu Arg Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu	
205 210 215	
ttt tgg ggc agg tac ttg aca caa ttc caa atg ttc cag ttt atg ctg 12	2244
Phe Trp Gly Arg Tyr Leu Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu	
220 225 230	
220	
aac tta gtg cag gct tac tac gac atg aaa acg aat gcg cca tat cca 12	292
Asn Leu Val Gln Ala Tyr Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro	
0.50	
235 240 245 250	
the state of the s	2340
taa tag tag att tag tat tag tag tag tag	,540
Gln Trp Leu Ile Lys Ile Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe	
255 260 265	
cee see age and see the sea and the see and see	2388
Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly	
270 275 280	
aag caa aag gga gct aaa act gag tga tctagaaggc ctcctgcttt 12	2435
Lys Gln Lys Gly Ala Lys Thr Glu	
285 290	
aatgagatat gcgagacgcc tatgatcgca tgatatttgc tttcaattct gttgtgcacg 12	2495
ttgtaaaaaa cctgagcatg tgtagctcag atccttaccg ccggtttcgg ttcattctaa 12	2555
tgaatatatc accepttact ategtatttt tatgaataat atteteegtt caatttactg 12	2615
attgtccgtc gagcaaattt acacattgcc actaaacgtc taaacccttg taatttgttt 12	2675
ttgttttact atgtgtgtta tgtatttgat ttgcgataaa tttttatatt tggtactaaa 1	2735

tttataacac cttttatgct aacgtttgcc aacacttagc aatttgcaag ttgattaatt 12795

gat	tcta	aat	tatt	tttg	tc t	tcta	aata	c at	atac	taat	caa	ctgg	aaa	tgta	aatatt	12855
tgc	taat	att	tcta	ctat	ag g	agaa	ttaaa	a gt	gagt	gaat	atg	gtac	cac	aagg	tttgga	12915
gat	ttaa	ttg	ttgc	aatg	ct g	catg	gatg	g ca	tata	cacc	aaa	catt	caa	taat	tcttga	12975
gga	taat	aat	ggta	ccaca	ac a	agat	ttgag	g gt	gcat	gaac	gtca	acgt	gga	caaa	aggttt	13035
agt	aatt	ttt	caag	acaa	ca a	tgtt	accad	c ac	acaa	gttt	tgag	ggtg	cat	gcat	ggatgc	13095
cct	gtgg	aaa	gttt	aaaa	at a	tttt	ggaaa	a tga	attt	gcat	ggaa	agcc	atg	tgta	aaacca	13155
tga	catc	cac	ttgg	aggat	tg c	aata	atgaa	a ga	aaac	taca	aati	ttaca	atg	caac	tagtta	13215
tgc	atgt	agt	ctat	ataa	tg a	ggat	tttg	aat	tact	tca	ttca	ataca	aca	ctca	ctaagt	13275
ttt	acac	gat	tata	attt	ct to	cata	gccag	g cg	gatc		-		_	a Gl	ggt Gly	13330
aaa	ctt	cad	cau	aac	tot	ctc	as a	caa.	220	atc	asc.	ata	asa	cac	a++	13378
														His		13370
gcc	agt	atg	tct	ctc	ttc	agc	gac	ttc	ttc	agt	tat	gtg	tct	tca	act	13426
Ala	Ser 315	Met	Ser	Leu	Phe	Ser 320	Asp	Phe	Phe	Ser	Tyr 325	Val	Ser	Ser	Thr	
gtt	ggt	tcg	tgg	agc	gta	cac	agt	ata	caa	cct	ttg	aag	cgc	ctg	acg	13474
Val 330	Gly	Ser	Trp	Ser	Val 335	His	Ser	Ile	Gln	Pro 340	Leu	Lys	Arg	Leu	Thr 345	
agt	aag	aag	cgt	gtt	tcg	gaa	agc	gct	gcc	gtg	caa	tgt	ata	tca	gct	13522
Ser	Lys	Lys	Arg	Val 350	Ser	Glu	Ser	Ala	Ala 355	Val	Gln	Cys	Ile	Ser 360	Ala	
gaa	gtt	cag	aga	aat	tcg	agt	acc	cag	gga	act	gcg	gag	gca	ctc	gca	13570

gaa tca gtc gtg aag ccc acg aga cga agg tca tct cag tgg aag aag

Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Ser Ser Gln Trp Lys Lys

tog aca cac ccc cta tca gaa gta gca gta cac aac aag cca agc gat Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val His Asn Lys Pro Ser Asp

tgc tgg att gtt gta aaa aac aag gtg tat gat gtt tcc aat ttt gcg

Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr Asp Val Ser Asn Phe Ala

gac gag cat ccc gga gga tca gtt att agt act tat ttt gga cga gac

Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser Thr Tyr Phe Gly Arg Asp

ggc aca gat gtt ttc tct agt ttt cat gca gct tct aca tgg aaa att

Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala Ala Ser Thr Trp Lys Ile

ctt caa gac ttt tac att ggt gac gtg gag agg gtg gag ccg act cca

Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu Arg Val Glu Pro Thr Pro

gag ctg ctg aaa gat ttc cga gaa atg aga gct ctt ttc ctg agg gag

Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg Ala Leu Phe Leu Arg Glu

caa ctt ttc aaa agt tcg aaa ttg tac tat gtt atg aag ctg ctc acg

Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr Val Met Lys Leu Leu Thr

aat gtt gct att ttt gct gcg agc att gca ata ata tgt tgg agc aag

Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala Ile Ile Cys Trp Ser Lys

act att tca gcg gtt ttg gct tca gct tgt atg atg gct ctg tgt ttc

Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys Met Met Ala Leu Cys Phe

caa	cag	tgc	gga	tgg	cta	tcc	cat	gat	ttt	ctc	cac	aat	cag	gtg	ttt	14098
Gln	Gln	Cys	Gly	Trp	Leu	Ser	His	Asp	Phe	Leu	His	Asn	Gln	Val	Phe	
		540					545					550				
gag	aca	cac	taa	ctt	aat	αаа	att	atc	aaa	tat	ata	atc	aac	aac	gcc.	14146
_															_	14140
GIU		Arg	ııp	neu	VSII		Val	vai	GIY	ıyı	Val	116	GIY	ASII	ATA	
	555					560					565					
gtt	ctg	ggg	ttt	agt	aca	ggg	tgg	tgg	aag	gag	aag	cat	aac	ctt	cat	14194
Val	Leu	Gly	Phe	Ser	Thr	Gly	Trp	Trp	Lys	Glu	Lys	His	Asn	Leu	His	
570					575					580					585	
cat	gct	gct	cca	aat	gaa	tgc	gat	cag	act	tac	caa	cca	att	gat	gaa	14242
His	Ala	Ala	Pro	Asn	Glu	Cys	Asp	Gln	Thr	Tyr	Gln	Pro	Ile	Asp	Glu	
				590					595					600		
															•	
~a+	a++	σa+	act	ctc	CCC	ctc	a++	~~~	+~~	200	aag	~ 2 ~	ata	cta	~~~	14200
								_		_	_	_		_	_	14290
ASP	TIE	ASP		reu	PIO	Leu	TTE		тр	Ser	Lys	Asp		ьeu	Ala	
			605					610					615			
aca	gtt	gag	aat	aag	aca	ttc	ttg	cga	atc	ctc	caa	tac	cag	cat	ctg	14338
Thr	Val	Glu	Asn	Lys	Thr	Phe	Leu	Arg	Ile	Leu	Gln	Tyr	Gln	His	Leu	
		620					625					630				
ttc	ttc	atg	ggt	ctg	tta	ttt	ttc	gcc	cgt	ggt	agt	tgg	ctc	ttt	tgg	14386
											Ser					
	635		•			640					645					
											0.15					
200	+~~	202	+ = +	200	tat	202	a c.	~+~	a+ a	tas	aat	~+ ~	~~~	200	~	14424
											cct	_	_			14434
	Trp	Arg	туг	Inr		Thr	Ala	vaı	Leu		Pro	Val	Asp	Arg		
650					655					660					665	
ttg	gag	aag	gga	act	gtt	ctg	ttt	cac	tac	ttt	tgg	ttc	gtc	ggg	aca	14482
Leu	Glu	Lys	Gly	Thr	Val	Leu	Phe	His	Tyr	Phe	Trp	Phe	Val	Gly	Thr	
				670					675					680	•	
gcg	tgc	tat	ctt	ctc	cct	ggt	tga	aaq	cca	tta	gta	taa	ato	gca	gta	14530
											Val		_			-
		-1-	685			1	<u>r</u> -	690				1	695			
			003					050					075			

act gag ctc atg tcc ggc atg ctg ctg ggc ttt gta ttt gta ctt agc 14578 Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly Phe Val Phe Val Leu Ser 710 705 700 cac aat ggg atg gag gtt tat aat tcg tct aaa gaa ttc gtg agt gca His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser Lys Glu Phe Val Ser Ala 725 7.20 715 cag atc gta tcc aca cgg gat atc aaa gga aac ata ttc aac gac tgg Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly Asn Ile Phe Asn Asp Trp 740 745 730 735 14722 ttc act ggt ggc ctt aac agg caa ata gag cat cat ctt ttc cca aca Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr 760 750 755 atg ccc agg cat aat tta aac aaa ata gca cct aga gtg gag gtg ttc 14770 Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala Pro Arg Val Glu Val Phe 770 775 765 tgt aag aaa cac ggt ctg gtg tac gaa gac gta tct att gct acc ggc 14818 Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Ile Ala Thr Gly 780 785 790 act tgc aag gtt ttg aaa gca ttg aag gaa gtc gcg gag gct gcg gca 14866 Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu Val Ala Glu Ala Ala Ala 795 800 805 gag cag cat gct acc acc agt taa gctagcgtta accctgcttt aatgagatat 14920 Glu Gln His Ala Thr Thr Ser 810 815 gcgagacgcc tatgatcgca tgatatttgc tttcaattct gttgtgcacg ttgtaaaaaa 14980 cctgagcatg tgtagctcag atccttaccg ccggtttcgg ttcattctaa tgaatatatc 15040 accepttact ategtatttt tatgaataat atteteegtt caatttactg attgteegte 15100 gagcaaattt acacattgcc actaaacgtc taaacccttg taatttgttt ttgttttact 15160

atgtgtgtta tgtatttgat ttgcgataaa tttttatatt tggtactaaa tttataacac 15220
cttttatgct aacgtttgcc aacacttagc aatttgcaag ttgattaatt gattctaaat 15280
tatttttgtc ttctaaatac atatactaat caactggaaa tgtaaatatt tgctaatatt 15340
tctactatag gagaattaaa gtgagtgaat atggtaccac aaggtttgga gatttaattg 15400
ttgcaatgct gcatggatgg catatacacc aaacattcaa taattcttga ggataataat 15460
ggtaccacac aagatttgag gtgcatgaac gtcacgtgga caaaaggttt agtaattttt 15520
caagacaaca atgttaccac acacaagttt tgaggtgcat gcatggatgc cctgtggaaa 15580
gtttaaaaat attttggaaa tgatttgcat ggaagccatg tgtaaaacca tgacatccac 15640
ttggaggatg caataatgaa gaaaactaca aatttacatg caactagtta tgcatgtagt 15700
ctatataatg aggattttgc aatactttca ttcatacaca ctcactaagt tttacacgat 15760
tataatttct tcatagccag cagatctaaa atg gct ccg gat gcg gat aag ctt 15814
tataatttct tcatagccag cagatctaaa atg gct ccg gat gcg gat aag ctt 15814 Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu 820 825
Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu 820 825 cga caa cgc cag acg act gcg gta gcg aag cac aat gct gct acc ata 15862
Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu 820 825
Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu 820 825 cga caa cgc cag acg act gcg gta gcg aag cac aat gct gct acc ata Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile 830 835 840 tcg acg cag gaa cgc ctt tgc agt ctg tct tcg ctc aaa ggc gaa gaa 15910
Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu 820 825 cga caa cgc cag acg act gcg gta gcg aag cac aat gct gct acc ata 15862 Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile 830 835 840 tcg acg cag gaa cgc ctt tgc agt ctg tct tcg ctc aaa ggc gaa gaa 15910 Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu
Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu 820 825 Cga Caa Cgc Cag acg act gcg gta gcg aag cac aat gct gct acc ata 15862 Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile 830 835 840 tcg acg cag gaa cgc ctt tgc agt ctg tct tcg ctc aaa ggc gaa gaa 15910 Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu 845 850 855
Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu 820 825 cga caa cgc cag acg act gcg gta gcg aag cac aat gct gct acc ata Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile 830 835 840 tcg acg cag gaa cgc ctt tgc agt ctg tct tcg ctc aaa ggc gaa gaa 15910 Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu 845 850 855 gtc tgc atc gac gga atc atc tat gac ctc caa tca ttc gat cat ccc 15958
Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu 820 825 Cga caa cgc cag acg act gcg gta gcg aag cac aat gct gct acc ata 15862 Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile 830 835 840 tcg acg cag gaa cgc ctt tgc agt ctg tct tcg ctc aaa ggc gaa gaa 15910 Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu 845 850 855 gtc tgc atc gac gga atc atc tat gac ctc caa tca ttc gat cat ccc 15958 Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro
Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu 820 825 cga caa cgc cag acg act gcg gta gcg aag cac aat gct gct acc ata Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile 830 835 840 tcg acg cag gaa cgc ctt tgc agt ctg tct tcg ctc aaa ggc gaa gaa 15910 Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu 845 850 855 gtc tgc atc gac gga atc atc tat gac ctc caa tca ttc gat cat ccc 15958
Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu 820 825 Cga caa cgc cag acg act gcg gta gcg aag cac aat gct gct acc ata 15862 Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile 830 835 840 tcg acg cag gaa cgc ctt tgc agt ctg tct tcg ctc aaa ggc gaa gaa 15910 Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu 845 850 855 gtc tgc atc gac gga atc atc tat gac ctc caa tca ttc gat cat ccc 15958 Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro

]	L 97						
tac	aag	atg	att	cac	ccg	tac	cat	acc	gag	aag	cat	ttg	gaa	aag	atg	16054
Tyr	Lys	Met	Ile	His	Pro	Tyr	His	Thr	Glu	Lys	His	Leu	Glu	Lys	Met	
890					895					900					905	
aag	cgt	gtc	ggc	aag	gtg	acg	gat	ttc	gtc	tgc	gag	tac	aag	ttc	gat	16102
Lys	.Arg	Val	Gly	Lys	Val	Thr	Asp	Phe	Val	Cys	Glu	Tyr	Lys	Phe	Asp	
				910					915				•	920		
acc	gaa	ttt	gaa	cgc	gaa	atc	aaa	cga	gaa	gtc	ttc	aag	att	gtg	cga	16150
Thr	Glu	Phe	Glu	Arg	Glu	Ile	Lys	Arg	Glu	Val	Phe	Lys	Ile	Val	Arg	
			925					930					935			
cga	ggc	aag	gat	ttc	ggt	act	ttg	gga	tgg	ttc	ttc	cgt	gcg	ttt	tgc	16198
Arg	Gly	Lys	Asp	Phe	Gly	Thr	Leu	Gly	Trp	Phe	Phe	Arg	Ala	Phe	Cys	
		940					945					950		•		
tac	att	gcc	att	ttc	ttc	tac	ctg	cag	tac	cat	tgg	gtc	acc	acg	gga	16246
Tyr	Ile	Ala	Ile	Phe	Phe	Tyr	Leu	Gln	Tyr	His	Trp	Val	Thr	Thr	Gly	
	955					960					965					
acc	tct	tgg	ctg	ctg	gcc	gtg	gcc	tac	gga	atc	tcc	caa	gcg	atg	att	16294
Thr	Ser	Trp	Leu	Leu	Ala	Val	Ala	Tyr	Gly	Ile	Ser	Gln	Ala	Met	Ile	
970					975					980					985	
ggc	atg	aat	gtc	cag	cac	gat	gcc	aac	cac	ggg	gcc	acc	tcc	aag	cgt	16342
Gly	Met	Asn	Val	Gln	His	Asp	Ala	Asn	His	Gly	Ala	Thr	Ser	Lys	Arg	
				990					995				1	.000		
ccc	tgg	gtc	aac	gac	atg	cta	ggc	ctc	ggt	gcg	gat	ttt	att	ggt	ggt	16390
Pro	Trp	Val	Asn	Asp	Met	Leu	Gly	Leu	Gly	Ala	Asp	Phe	Ile	Gly	Gly	
		1	.005				1	010				1	1015			
tcc	aag	tgg	ctc	tgg	cag	gaa	caa	cac	tgg	acc	cac	cac	gct	tac	acc	16438
Ser	Lys	Trp	Leu	Trp	Gln	Glu	Gln	His	Trp	Thr	His	His	Ala	Tyr	Thr	
	1	.020				1	.025				1	.030				
aat	caç	gcc	gag	atg	gat	ccc	gat	agc	ttt	ggt	gcc	gaa	cca	atg	ctc	16486
Asn	His	Ala	Glu	Met	Asp	Pro	Asp	Ser	Phe	Gly	Ala	Glu	Pro	Met	Leu	
1	.035				1	.040				. 1	.045					

PCT/EP03/04297

WO 03/093482 cta ttc aac gac tat ccc ttg gat cat ccc gct cgt acc tgg cta cat Leu Phe Asn Asp Tyr Pro Leu Asp His Pro Ala Arg Thr Trp Leu His cgc ttt caa gca ttc ttt tac atg ccc gtc ttg gct gga tac tgg ttg Arg Phe Gln Ala Phe Phe Tyr Met Pro Val Leu Ala Gly Tyr Trp Leu tcc gct gtc ttc aat cca caa att ctt gac ctc cag caa cgc ggc gca Ser Ala Val Phe Asn Pro Gln Ile Leu Asp Leu Gln Gln Arg Gly Ala ctt tcc gtc ggt atc cgt ctc gac aac gct ttc att cac tcg cga cgc Leu Ser Val Gly Ile Arg Leu Asp Asn Ala Phe Ile His Ser Arg Arg aag tat gcg gtt ttc tgg cgg gct gtg tac att gcg gtg aac gtg att Lys Tyr Ala Val Phe Trp Arg Ala Val Tyr Ile Ala Val Asn Val Ile get eeg tit tac aca aac tee gge ete gaa teg tee teg egt gte tit Ala Pro Phe Tyr Thr Asn Ser Gly Leu Glu Trp Ser Trp Arg Val Phe gga aac atc atg ctc atg ggt gtg gcg gaa tcg ctc gcg ctg gcg gtc Gly Asn Ile Met Leu Met Gly Val Ala Glu Ser Leu Ala Leu Ala Val ctg ttt tcg ttg tcg cac aat ttc gaa tcc gcg gat cgc gat ccg acc Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe Glu Ser Ala Asp Arg Asp Pro Thr gcc cca ctg aaa aag acg gga gaa cca gtc gac tgg ttc aag aca cag Ala Pro Leu Lys Lys Thr Gly Glu Pro Val Asp Trp Phe Lys Thr Gln gtc gaa act tcc tgc act tac ggt gga ttc ctt tcc ggt tgc ttc acg

Val Glu Thr Ser Cys Thr Tyr Gly Gly Phe Leu Ser Gly Cys Phe Thr

WO 03/093482	PCT/EP03/04297
gga ggt ctc aac ttt cag gtt gaa cac cac ttg ttc cca cgc	atg agc 17014
Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu His His Leu Phe Pro Arg	
1210 1215 1220	1225
agc gct tgg tat ccc tac att gcc ccc aag gtc cgc gaa att	tgc gcc 17062
Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala Pro Lys Val Arg Glu Ile	Cys Ala
1230 1235 1	240
aaa cac ggc gtc cac tac gcc tac tac ccg tgg atc cac caa	aac ttt 17110
Lys His Gly Val His Tyr Ala Tyr Tyr Pro Trp Ile His Gln	Asn Phe
1245 1250 1255	
ctc tcc acc gtc cgc tac atg cac gcg gcc ggg acc ggt gcc	aac tgg 17158
Leu Ser Thr Val Arg Tyr Met His Ala Ala Gly Thr Gly Ala	Asn Trp
1260 1265 1270	•
cgc cag atg gcc aga gaa aat ccc ttg acc gga cgg gcg taa	17200
Arg Gln Met Ala Arg Glu Asn Pro Leu Thr Gly Arg Ala	•
1275 1280 1285	
agatetgeeg geategatee egggeeatgg eetgetttaa tgagatatge g	agacgccta 17260
tgatcgcatg atatttgctt tcaattctgt tgtgcacgtt gtaaaaaacc t	gagcatgtg 17320
tageteagat cettacegee ggttteggtt cattetaatg aatatateae e	cgttactat 17380
	·
cgtattttta tgaataatat tctccgttca atttactgat tgtccgtcga c	gagctcggc 17440
gcgcctctag aggatcgatg aattcagatc ggctgagtgg ctccttcaac g	ttgcggttc 17500
tgtcagttcc aaacgtaaaa cggcttgtcc cgcgtcatcg gcgggggtca t	aacgtgact 17560

cccttaattc tccgctcatg atcagattgt cgtttcccgc cttcagttta aactatcagt 17620

gtttgacagg atatattggc gggtaaacct aagagaaaag agcgtttatt agaataatcg 17680

gatatttaaa agggcgtgaa aaggtttatc cttcgtccat ttgtatgtgc atgccaacca 17740

cagggttccc ca

<210> 47

<211> 290

<212> PRT

<213> Unknown

<400> 47

Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser

1 5 10 15

Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp 20 25 30

Thr Pro Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile
35 40 45

Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu 50 55 60

Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu 65 70 75 80

Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser 85 90 95

Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln Ala Ile Thr Trp Arg Tyr
100 105 110

Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys His Lys Glu Met Ala Ile 115 120 125

Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr Val Glu Phe Met Asp Thr 130 135 140

Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg Gln Ile Ser Phe Leu His 145 150 155 160

Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile Trp Trp Ala Ile Ala His 165 170 175

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	:201	

His	Ala	Pro	Gly	Gly	Glu	Ala	Tyr	Trp	Ser	Ala	Ala	Leu	Asn	Ser	Gly
			100					105					100		

Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe Leu Ala Ala Cys Leu Arg

Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu Phe Trp Gly Arg Tyr Leu

Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu Asn Leu Val Gln Ala Tyr

Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile

Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr

Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys

Thr Glu

<210> 48

<211> 525

<212> PRT

<213> Unknown

<400> 48

Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn

Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe

Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln

75

80

Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala 50 55 60

Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly

70

Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg 85 90 95

Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val 100 105 110

His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr
115 120 125

Asp Val Ser Asn Phe Ala Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser 130 135 140

Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala 145 150 155 160

Ala Ser Thr Trp Lys Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu 165 170 175

Arg Val Glu Pro Thr Pro Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg 180 185 190

Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr 195 200 205

Val Met Lys Leu Leu Thr Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala 210 215 220

Ile Ile Cys Trp Ser Lys Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys
225 230 235 240

Met Met Ala Leu Cys Phe Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe 245 250 255

Leu His Asn Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly

260 265 270

Tyr Val Ile Gly Asn Ala Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys 275 280 285

Glu Lys His Asn Leu His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr 290 295 300

Tyr Gln Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp 305 310 315 320

Ser Lys Asp Ile Leu Ala Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile 325 330 335

Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg 340 345 350

Gly Ser Trp Leu Phe Trp Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu 355 360 365

Ser Pro Val Asp Arg Leu Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr 370 375 380

Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro 385 390 395 400

Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly 405 410 415

Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser 420 425 430

Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly
435 440 445

Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu 450 455 460

His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala 465 470 475 480

Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp

Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu

Val Ala Glu Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser

<210> 49

<211> 469

<212> PRT

<213> Unknown

<400> 49

Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val .5

Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser

Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr

Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro Gly Gly Glu Thr Ile Lys Met Phe

Gly Gly Asn Asp Val Thr Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His

Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp

Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys

Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu

Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu Gln Tyr His Trp Val Thr Thr Gly Thr Ser Trp Leu Leu Ala Val Ala Tyr Gly Ile Ser Gln Ala Met Ile Gly Met Asn Val Gln His Asp Ala Asn His Gly Ala Thr Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn Asp Met Leu Gly Leu Gly Ala Asp Phe Ile Gly Gly Ser Lys Trp Leu Trp Gln Glu Gln His Trp Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ala Glu Met Asp Pro Asp Ser Phe Gly Ala Glu Pro Met Leu Leu Phe Asn Asp Tyr Pro Leu Asp His Pro Ala Arg Thr Trp Leu His Arg Phe Gln Ala Phe Phe Tyr Met Pro Val Leu Ala Gly Tyr Trp Leu Ser Ala Val Phe Asn Pro Gln Ile Leu Asp Leu Gln Gln Arg Gly Ala Leu Ser Val Gly Ile Arg Leu Asp Asn Ala Phe Ile His Ser Arg Arg Lys Tyr Ala Val Phe Trp Arg Ala

290 295 300

Val Tyr Ile Ala Val Asn Val Ile Ala Pro Phe Tyr Thr Asn Ser Gly
305 310 . 315 320

Leu Glu Trp Ser Trp Arg Val Phe Gly Asn Ile Met Leu Met Gly Val
325 330 335

206

Ala Glu Ser Leu Ala Leu Ala Val Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe 340 345 350

Glu Ser Ala Asp Arg Asp Pro Thr Ala Pro Leu Lys Lys Thr Gly Glu 355 360 365

Pro Val Asp Trp Phe Lys Thr Gln Val Glu Thr Ser Cys Thr Tyr Gly 370 375 380

Gly Phe Leu Ser Gly Cys Phe Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu 385 390 395 400

His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala 405 410 415

Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Ala Lys His Gly Val His Tyr Ala Tyr
420 425 430

Tyr Pro Trp Ile His Gln Asn Phe Leu Ser Thr Val Arg Tyr Met His
435 440 445

Ala Ala Gly Thr Gly Ala Asn Trp Arg Gln Met Ala Arg Glu Asn Pro 450 455 460

Leu Thr Gly Arg Ala 465

<210> 50

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Polylinker

<400> 50

gaattcggcg cgccgagctc ctcgag

<210> 51

<211> 265

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Polylinker-Terminator-Polylinker

<400> 51

ccaccgcggt gggcggccgc ctgcagtcta gaaggcctcc tgctttaatg agatatgcga 60
gacgcctatg atcgcatgat atttgctttc aattctgttg tgcacgttgt aaaaaacctg 120
agcatgtgta gctcagatcc ttaccgccgg tttcggttca ttctaatgaa tatatcaccc 180
gttactatcg tattttatg aataatattc tccgttcaat ttactgattg tccgtcgacg 240
aattcgagct cggcgcgca agctt 265

<210> 52

<211> 257

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Polylinker-Terminator-Polylinker

<400> 52

ggatccgata tcgggcccgc tagcgttaac cctgctttaa tgagatatgc gagacgccta 60
tgatcgcatg atatttgctt tcaattctgt tgtgcacgtt gtaaaaaacc tgagcatgtg 120
tagctcagat ccttaccgcc ggtttcggtt cattctaatg aatatatcac ccgttactat 180
cgtatttta tgaataatat tctccgttca atttactgat tgtccgtcga cgaattcgag 240
ctcggcgcgc caagctt 257

<210> 53

<211> 257

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Polylinker-Terminator-Polylinker RADEMA

<400> 53

agatetgeeg geategatee egggeeatgg eetgetttaa tgagatatge gagaegeeta 60
tgategeatg atatttgett teaattetgt tgtgeaegtt gtaaaaaace tgageatgtg 120
tageteagat eettaeegee ggttteggtt eattetaatg aatatateae eegttaetat 180
egtatttta tgaataatat teteegttea atttaetgat tgteegtega egaattegag 240
eteggegege eaagett 257